

Liss. Lund
1893

OM TRYPSINDIGESTIONEN.

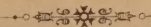
AKADEMISK AFHANDLING,
SOM MED VEDERBÖRLIGT TILLSTÅND
FÖR ERHÅLLANDE AF MEDICINSK DOKTORSGRAD
VID LUNDS UNIVERSITET
TILL OFFENTLIG GRANSKNING FRAMSTÄLLES
LÖRDAGEN DEN 29 APRIL 1893 KL. 10 F. M.
Å MED. KEMISKA LÄROSALEN



AF

S. G. HEDIN,
MED. LIC., FIL. D.R., DOCENT I KEMI.

(AFTRYCK UR KONGL. FYSIOGRAFISKA SÄLLSKAPETS I LUND HANDLINGAR, B. 4.)



LUND 1893,
BERLINGSKA BOKTRYCKERI- OCH STILGJUTERI-AKTIEBOLAGET.

Sedan CL. BERNARD iakttagit, att pankreassekret eger förmågan att lösa koagulerad ägghvita ¹⁾, ådagalades detta ytterligare genom CORVISART'S undersökningar ²⁾. Denne fann, att ägghvitekropparne icke blott lösas af pankreas-saften utan äfven öfverföras i en annan modifikation, nemligen pepton eller den form, hvori ägghvitan enligt föregående undersökningar af Miabie och Lehmann öfverföres vid inverkan af magsaft. I de af magsaften bildade peptonerna framkallar enligt Corvisart pankreassaften ingen förändring. Vidare är pankreassekretets verkan oberoende af lösningens reaktion. Bland de forskare, som sedermera sysslade med pankreasdigestionen, anslöto sig somliga till Corvisart, under det andra fränkände hans försök all betydelse. Så medgaf MEISSNER, att pankreaskörteln eger förmåga att lösa ägghvita, men blott vid sur reaktion ³⁾. Den viktigaste invändningen mot Corvisarts försök var, att verkan af en infus på körteln ej utan vidare kunde likställas med verkan af körtelsekretet.

Denna anmärkning häfdes emellertid genom undersökningar af KÜHNE ⁴⁾, som dels visade, att den tjockflytande saft, som erhålles från temporära pankreasfistlar på hundar, är i stånd att på $\frac{1}{2}$ —3 timmar vid 40° lösa betydliga mängder fibrin, dels underkastade produkterna af fibrinets digestion med pankreasinfus en närmre undersökning. Vid digestionen använde han hundpankreas, som sönderskars fint och härpå vid 40—45° under 3—6 timmar digererades med kokt fibrin af nötkreatur. Utveckling af förruttnelseorganismer egde ej rum vid så kort digestionstid. Digestionsvätskan bibehöll hela tiden svagt alkalisk reaktion. Emellertid visade K., att digestionen kan försiggå äfven i neutral eller svagt sur lösning. Med afseende på digestionsprodukterna ådagalade K.,

¹⁾ Mémoire sur le pancréas, Paris 1856.

²⁾ Compt. rend., T. 49 (1859), p. 43.

³⁾ Zeitschr. f. rat. Med., Bd. 7, p. 17.

⁴⁾ Arch. f. patol. Anat. u. Physiol., Bd. 39 (1867), p. 130.

att fibrinet icke blott, såsom Corvisart visat, öfverföres i löslig, diffusibel form, utan att dessutom bildas kristalliserbara produkter, nemligen tyrosin och leucin. Vid ett försök, der alla produkter vägdes, erhöll han 26 pCt af fibrinet såsom olöst rest vid digestionens slut, 61 pCt såsom s. k. pepton, 3,86 pCt tyrosin och 9,1 pCt leucin. För dessa ämnens isolering silades vätskan efter slutad digestion, då rester af fibrin och pankreasstycken qvarhöllos; filtratet försattes med ättiksyra till svagt sur reaktion, koktes och filtrerades från utfälld ägghvita. Filtratet härifrån indunstades till ringa volum och försattes med alkohol, tills en flockig fällning började afskiljas. Efter 24 timmar hade en seg massa afsatt sig, som antogs vara pepton. Den alkoholiska lösningen gaf vid alkoholens afdestillering först tyrosin och sedan leucin. Att pepton, tyrosin och leucin ej uteslutande kunde härleda sig från den tillsatta pankreaskörteln, visade K. dels genom undersökning af den färskas körteln utan digestion, hvarvid erhöles spår af pepton, intet tyrosin och små mängder leucin, dels genom sjelfdigestion af en körtel, då han kunde påvisa pepton, tyrosin och leucin men i betydligt mindre mängder än vid digestion af fibrin. Slutligen visade K., att dessa produkter bildas ej blott vid konstgjord digestion utan äfven vid digestionen i tarmen. På en hund afstängde han genom underbindning ett stycke af tarmen, så att pankreaskörteln nedre utförsgång mynnade deri, renspolade detsamma samt införde deri fibrin, uppslammadt i vatten. Efter 4 timmar kunde i detta tarmstycke påvisas samma produkter som vid konstgjord digestion.

Vidare upplysningar om produkterna af ägghvitans sönderdelning med trypsin lemnade Kühne år 1876 ¹⁾. Han särskilde nu tvenne stadier vid trypsindigestionen: 1) förvandlingen af ägghvita till pepton och 2) vidare sönderfall af peptonets ena hälft i tyrosin och leucin, under det den andra hälften blef oförändrad. Det förra slaget af pepton kallade han hemicpepton, det senare antipepton. Vid ventrikeldigestionen går enligt Kühne ägghvitans sönderfall ej längre än till bildningen af pepton. I anledning af trypsinets inverkan på ägghvita anser K., att ägghvitan består af tvenne olika molekyler, hvilkas hydrater utgöras af båda slagen af pepton. Genom senare undersökningar ²⁾ har Kühne tillsammans med CHITTENDEN framställt flera mellanprodukter mellan ägghvita och pepton, hvilka kunna sammanfattas under benämningen albumoser,

¹⁾ Verh. d. nat. hist. Ver. z. Heidelb. 1876. 1, Heft. 4.

²⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 19, p. 159 och Bd. 22, p. 423.

på samma gång som han angifvit andra metoder för erhållande af rent pepton såväl genom pepsindigestionen (amphopepton) som genom trypsindigestionen (antipepton). För att skilja pepton från albumoserna begagnar han sig af dessa senare produkters fällbarhet för svafvelsyrad ammoniak ¹⁾. Om trypsindigestionen drifves tillräckligt långt och med tillräckliga mängder trypsin, behöfves emellertid ej någon sådan behandling af antipeptonet, emedan under sådana förhållanden all ägghvita öfverföres i pepton; emellertid tillråder Kühne äfven för detta fall behandling med ammoniumsulfat, emedan detta utfäller trypsinet, som annars skulle förorena det erhållna peptonet. För erhållande af antipepton i möjligast rena form digererades fibrin under en vecka med pankreasextrakt i svagt alkalisk lösning och med tillsats af tymol. Digestionsvätskan koktes med något ättiksyra och filtrerades samt koncentrerades, så att tyrosin och en del leucin utkristalliserade. Filtratet försattes med alkohol, tills "peptonfällning" började visa sig, och ställdes till kristallisation. Moderluten, som nu innehöll peptonet, försattes efter alkoholens aflägsnande med svafvelsyrad ammoniak till mättning. Ur filtratet från den uppkomna fällningen aflägsnades den svafvelsyrade ammoniaken dels genom utkristallisering dels genom utfällning med alkohol samt slutligen genom lösningens kokning med barythydrat, så länge ammoniak bortgick. Den barythaltiga produkten ("barytpepton") fälldes med alkohol och koktes upprepade gånger dermed för aflägsnande af amidosyror. Derpå aflägsnades baryten med svafvelsyra och lösningen indunstades efter tillsats af något ammoniak och fälldes ånyo med alkohol. Det utfällda löstes i vatten, försattes med något ättiksyra, fälldes ännu en gång med alkohol och tvättades med eter. Den afskilda massan löstes i vatten och fälldes i svafvelsur lösning med fosforwolframsyra. Fällningen sönderdelades med barythydrat; "barytpeptonet" fälldes med alkohol, löstes i vatten, baryten fälldes jemt med svafvelsyra, peptonet fälldes ånyo med alkohol först ur ammoniakalisk och sedan ur ättiksur lösning samt tvättades slutligen grundligt med alkohol och eter. Det så erhållna peptonet smakade ytterst vidrigt, var venstervridande samt fälldes fullständigt af garfsyra och af jodqvicksilfverjodkalium och nära fullständigt af fosforwolfram- och fosformolybdensyra samt af pikrinsyra. Blyättika äfvensom sublimat orsakade starka fällningar. Analys gaf 46,59 pCt kol, 6,69 pCt qväfve och 0,67

¹⁾ Albumosen u. Peptone. Verh. d. nat. hist. Ver. z. Heidelb. N. F. 3, 286.

pCt svafvel. Enligt denna bestämning skulle således peptonet innehålla betydligt mindre kol än fibrinet, som innehåller ungefär 51 pCt.

Sedermera har SEBELIEN ¹⁾ framställt amphopepton genom att aflägsna albumoserna med ammoniumsulfat och sedan efter hand fälla peptonet med alkohol, fosforwolframsyra och garfsyra, hvilken senare syra dock i öfverskott tillsatt åter löste fällningen. Peptonlösningen var optiskt inaktiv.

Med afseende på fällningsmedlen för pepton uppger NEUMEISTER ²⁾, att garfsyra fäller peptonet men löser i öfverskott tillsatt den bildade fällningen, att jodquicksilfverjodkalium i svagt sur lösning och pikrinsyra i öfverskott ej fälla rent albumosfritt pepton samt att det bästa fällningsmedlet för rent pepton är quicksilfverklorid, som i neutral lösning fäller amphopepton och nära fullständigt fäller antipepton.

HOFMEISTER var den förste, som försökte fälla pepton med fosforwolframsyra och använde detta fällningsmedel för påvisande af pepton i urin ³⁾. Sedermera använde HIRSCHLER ⁴⁾ fosforwolframsyra för att i digestionsvätskor skilja pepton från amidosyror. På grund af analyser ansåg han sig nemligen hafva bevisat, dels att pepton fullständigt fälles, dels att amidosyrorna fullständigt gå i lösning vid behandling med fosforwolframsyra i sur lösning. Peptonets fullständiga fällbarhet för fosforwolframsyra har sedermera blifvit bestridd dels af Kühne och Chittenden (se ofvan) dels af Neumeister ⁵⁾, som visade, att man alltid i filtratet från fosforwolframsyrefällningen kan erhålla biuretreaktion.

Utom de af Kühne funna amidosyrorna tyrosin och leucin funno SALKOWSKY och RADZIEJEWSKY ⁶⁾ vid digestion af fibrin med pankreaskörtel asparaginsyra. Samtidigt erhöll KNIERIEM ⁷⁾ vid digestion af vegetabilisk ägghvita samma syra jemte glutaminsyra. Tyrosin och leucin aflägsnades som förut och moderluten från det sistnämnda koktes med kopparoxidhydrat, då vid lösningens afsvauning ljusblå kristallnålar afsatte sig. Dessa löstes i vatten, kopparn fälldes med svafvelväte och lösningen koktes med kolsyrad blyoxid, filtrerades och försattes med alkohol, då en riklig hvit fällning bildades. Denna löstes i

¹⁾ Tidskr. f. Physik og Chemie, Bd. 9, p. 234.

²⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 26 (1889), p. 324.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 4 (1880), p. 253.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 11 (1887), p. 25.

⁵⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 26 (1889), p. 324.

⁶⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 7, p. 1050.

⁷⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 11 (1875) p. 198.

vatten och blyet fälldes med svafvelväte, hvarpå lösningen försattes med alkohol till 52 pCt. Härvid utföll asparaginsyra, som analyserades såsom kopparsalt. Ur den alkoholiska moderluten från asparaginsyran kunde Knieriem erhålla tetraëderliknande kristaller, hvilka efter kokning med kopparoxidhydrat gäfvö kristaller af glutaminsyrad kopparoxid. Redan förut hade emellertid KISTIAKOWSKI vid digestion af legumin med pankreasörtel erhållit glutaminsyra ¹⁾.

En ytterligare digestionsprodukt har HIRSCHLER funnit i ammoniak ²⁾. Fibrin digerades med pankreasextrakt vid 32°. För att undvika förruttelse måste digestionen afbrytas efter 4 timmar. Af digestionsvätskan afdestillerades en tredjedel och destillatet uppsamlades i saltsyra. Återstoden försattes med bränd magnesia och afdestillerades, under det destillatet uppsamlades i en ny portion saltsyra. I båda destillaten kunde nu med platinaklorid ammoniak påvisas. Genom kontrollförsök bestämdes, huru mycket ammoniak som erhöles genom att på fullständigt samma sätt digera och undersöka lika mycket pankreasextrakt som användts vid digestionen. De vid kontrollförsöket erhållna ammoniakmängderna drogoss ifrån de vid fibrindigestionen erhållna. Så erhöles af 30 gr. fibrin genom kokning af digestionsvätskan 0,0014 gr. ammoniak och vid destillation med magnesia 0,0104 gr. Vid ett försök med 50 gr. fibrin blefvo motsvarande siffror 0,0038 och 0,022 samt vid ett förnyadt försök med samma fibrinmängd resp. 0,0038 och 0,0213. Hirschlers försök upprepades sedan af STADELMANN ³⁾, som tillsatte tymol till digestionsvätskan och därför kunde fortsätta digestionen under en längre tid. Äfven han kunde konstatera, att vid destillation med magnesia en ringa mängd ammoniak öfverdestillerade. Huru vida denna härleder sig från ammoniaksalter eller från andra, ännu ej kända qväfvehaltiga föreningar, lemna han oafgjordt.

Utom hittills nämnda produkter, nemligen pepton, amidosyror och ammoniak, hafva äfven några andra kroppar uppgifvits såsom produkter af trypsindigestionen. Hit höra först hypoxanthin och xanthin, hvilka kroppar SALOMON uppgifver sig hafva erhållit vid digestionen af fibrin med pankreasextrakt ³⁾. Genom upprepade extraktion af pankreas med alkohol erhöles han körteln fri från xanthinkroppar och digererade sedan fibrin med ett extrakt deraf. Efter 24 timmar,

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. 9, p. 438.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 10 (1886), p. 302.

³⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 24 (1888), p. 261.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 2 (1878—79), p. 89.

då ännu betydliga mängder fibrin voro olösta och lösningen redan hade en svagt stinkande lukt, afbröts digestionen. Lösningen indunstades, extraherades med alkohol, filtrerades och försattes med ammoniak samt fälldes med silfverniträt. Fällningen sönderdelades med svafvelväte, lösningen indunstades till torrhet, återstoden löstes i svafvelsyra och fälldes ännu en gång i ammoniakalisk lösning med silfverniträt. Fällningen löstes genom uppvärmning med salpetersyra; vid lösningens afsvälning utkristalliserade en förening i nålar. En analys af den så erhållna silfverföreningen gaf 34,4 pCt silfver, under det hypoxanthinsilfverniträtet fordrar 35,3 pCt. Ur filtratet från denna förening fälldes med ammoniak en kropp, som antogs vara xanthinsilfver. Salomon betonar, huru xanthinkropparne uppträda i ett tidigt stadium af digestionen, under det de sedermera, och särskildt om förruttelse inträder, börja försvinna. Han sluter häraf, att dessa kroppar äro produkter af digestionen och ej af förruttelseprocesserna. Salomons undersökningar tyckas emellertid ej hafva blifvit ansedda för tillräckligt bevisande med afseende på hypoxanthinets och xanthinets bildning. I läroböckerua uppgifvas nemligen ej dessa kroppar såsom produkter af trypsindigestionen. Å ena sidan torde detta hafva sin grund i otillräckliga analytiska data och å den andra deruti, att digestionsvätskan öfvergick i förruttelse och xanthinkropparne således kunde vara produkter af mikroorganismers verksamhet. Att xanthinkropparne *försvinna* vid forsatt förruttelse utgör tydligen intet bevis för att de ej äfvenledes kunna *bildas* genom mikroorganismers verksamhet.

Ur digestionsvätskan af fibrin med pankreas har KÜLZ erhållit cystin och xanthin¹⁾. 290 gr. fibrin digererades med 270 gr. pankreas och 3 gr. salicylsyra i 1 liter vatten några dagar, hvarefter filtrerades. Efter koncentrerung fick filtratet stå en tid, hvarunder afsatte sig en hvit bottensats, som var olöslig i vatten men löslig i ammoniak. Ur ammoniakalisk lösning kristalliserade mikroskopiska sexsidiga taflor men intet tyrosin. Kristallerna, som voro olösliga i ättiksyra af 20 pCt, innehöllo både svafvel och qväfve, och deras lösning i ammoniak var venstervridande. På grund häraf anser K., att cystin förelåg, utan att någon analys gjordes. Äfven om kristallerna utgjorde cystin, återstår likväl att afgöra, om detta härledde sig från körtelsubstansen, som vid digestionen tillsattes i samma mängd som fibrinet, eller utgjorde en klyfningsprodukt af detta senare. Ur den ammoniakaliska moderluten från cystinet erhöles efter

¹⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 27 (1890), p. 215.

surgöring med saltsyra kristaller, som på grund af kvalitativa prof antogs vara saltsyradt xanthin. Om dess ursprung gäller naturligtvis samma anmärkning som om cystinets.

Såsom produkt af fibrinets digestion med pankreas uppgifver OSSIKOWSKY kanelaldehyd ¹⁾. Han digererade lika delar fibrin och pankreas under 4—5 dagar vid 40—45°. Produkten destillerades med vattenångor, destillatet; som hade en vidrig lukt, skakades med eter, som extraherade en olja. Då denna behandlades med bränd kalk, bortgick ammoniak, och vid återstodens indunstning märktes intensiv lukt af kanelaldehyd. Oljan gaf vid oxidation med svafvelsyra och surt kromsyradt kali benzoesyra. Vid somliga försök fann han i destillatet utom nyssnämnda olja äfven indol och skatol, hvilket bevisar, att förruttnelseorganismer varit verksamma vid digestionen, något som för öfrigt nödvändigt måste hafva egt rum under 4—5 dagars digestion utan tillsats af något antisepticum. Försöket torde således ej kunna anses bevisande för kanelaldehydens bildning vid trypsindigestionen.

Slutligen hafva olika forskare (Krukenberg, Hemala, Lander Brunton, Bourquelot, Stadelmann, Neumeister) i digestionsvätskan kunnat påvisa en kropp, som med bromvatten ger en röd färgning. Enligt Stadelmann ²⁾ bildas detta ämne — proteinokromet — af ett kromogen, som förstöres, då digestionsvätskan försättes med svafvelsyra, salpetersyra, klorvätesyra, natronlut, soda eller ammoniak till en halt af 5 pCt och derpå kokas. Ättiketer och amylalkohol upptaga någon del af kromogenet. I sina flesta egenskaper öfverensstämmer detta med pepton: det fälls af sublimat, garfsyra och alkohol samt diffunderar. För erhållande af proteinokromet försätter Stadelmann digestionsvätskan efter aflägsnande af tyrosin och leucin med ättiksyra och derefter med bromvatten. Härvid bildas en rödviolett fällning, som under längre förvaring sätter sig till botten och kan vidare renas genom utkokning med alkohol samt utgör proteinokrom i oren form. Såväl analyserna som de spektroskopiska förhållandena tala för att ämnet utgör en blandning af nära hvarandra stående föreningar. Analyserna ange hög svafvelhalt (3 pCt). Stadelmann räknar proteinokromet till ägghvitekropparne — och ej såsom Krukenberg ³⁾ till indigogruppen — samt antager, att det innehåller den svafvelhaltiga delen af ägghvitemolekulen.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 13 (1880), p. 326.

²⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 26 (1889), p. 491.

³⁾ Maly's Jahresber., Bd. 14 (1884), p. 321.

Af ofvanstående öfversigt inhemtas, att följande kroppar blifvit påvisade såsom produkter af fibrinets digestion med trypsin: pepton (Corvisart, Kühne m. fl.), tyrosin och leucin (Kühne), asparaginsyra (Salkowsky och Radziejewsky) samt en eller flera kroppar, som efter behandling med syra och bromvatten ge en rödbrun fällning (Stadelmann m. fl.) ¹⁾. Vidare bildas vid trypsindigestionen ammoniak i mycket små mängder eller åtminstone kroppar, som vid destillation med bränd magnesia gifva ammoniak (Hirschler och Stadelmann). Att dervid bildas xanthinkroppar (Salomon), cystin (Külz) och kanelaldehyd (Ossikowsky) synes deremot ej tillräckligt ådagalagd ²⁾.

Hufvudmassan af digestionsprodukterna utgöres af det s. k. peptonet (enligt Kühne 61 pCt). Metoderna för framställning af denna kropp i ren form har varit underkastad stora vexlingar. Kühne framställde det först genom upprepad fällning med alkohol, sedermera begagnades ammoniumsulfat för utfällande af albuminaterna, och peptonet sjelft fälldes med fosforwolframsyra och med alkohol. Med afseende på Kühnes förfaringssätt att aflägsna ammoniumsulfatet genom kokning med barythydrat kunde man sätta i fråga, huru vida ej peptonet sjelft vid denna process undergår någon förändring, t. ex. sönderdelas vidare och ger amidosyror m. m. I hvarje händelse lemna de för peptonets framställande använda metoderna ingen säkerhet för att peptonet är en enhetlig produkt. Tvärtom synes den omständigheten, att olika forskare tillskrifva denna kropp olika såväl fysikaliska som kemiska egenskaper, tala för att de haft till undersökning olika sammansatta preparat. Peptonet saknar ock den egenskap, som framför andra tillkommer rena produkter, nemligen förmågan att kristallisera. Att peptonet skulle vara en blandning af flera kroppar har också HUPPERT ³⁾ angifvit med stöd af undersökningar af Hofmeister. Enligt dessa skulle peptonet (sannolikt framställt enligt Kühnes första förfaringssätt) innehålla utom tyrosin och leucin (hvilkas förekomst sannolikt berodde på ofullständig rening) tvenne

¹⁾ Dock kunde mot Salkowsky's och Radziejewsky's försök anmärkas, att den ringa mängden asparaginsyra möjligen kunde härleda sig från sjelfdigestion af körteln. Författarne anföra ej, huru mycket körtelsubstans som användes och synes ej hafva gjort något kontrollförsök *utan* fibrin.

²⁾ Såsom produkt af trypsindigestionen hafva Kühne och Nencki uppgifvit indol. Genom senare undersökningar hafva emellertid båda ådagalagd, att indol bildas genom förruttnelse och ej under inflytande af pankreasferment. Vidare har Häfner uppgifvit, att kolsyra alstras vid digestion af fibrin med pankreas, men vid senare försök funnit, att fibrinet sjelft under analoga förhållanden ger upphof till kolsyra.

³⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 6 (1873), p. 1278.

andra substanser, som stå lika långt från ägghvitekropparne som tyrosin och leucin. Af dessa kroppar gaf blott den ena biuretreaktion, och båda gafvo xanthoproteinsyrereaktion men på olika sätt. Några vidare upplysningar om dessa kroppar hafva sedan dess ej lemnats. Nyligen har SCHÜTZENBERGER ¹⁾ sökt uppdelat pepton, som dock var beredt med pepsinklorvätsyra, uti enklare kroppar genom fraktionerad fällning med fosforwolframsyra, hvarvid han väl erhållit produkter af olika qvantitativ sammansättning men inga kristalliserande kroppar.

Att döma af tillgängliga analyser af pepton synes detta, om vi frånse ofvan anförda analys af Kühne och Chittenden, hvilken skiljer sig från öfriga genom synnerligen låg kolhalt, hafva ungefär samma qvantitativa sammansättning som ägghvita. Man behöfver således ej antaga, att någon väsentlig mängd af andra produkter bildas vid ägghvitans öfverförande i pepton. Deremot måste man antaga, att samtidigt med bildningen af tyrosin, leucin och asparaginsyra, hvilka samtliga innehålla mindre qväfve än fibrinet, äfven bildas qväfverikare produkter. En sådan är ammoniak; emellertid synes det dels ej tillräckligt styrkt, att denna såsom sådan bildas vid digestionen, dels är i hvarje fall den bildade mängden otillräcklig för att motsvara qväfvemängden. Xanthinkropparne innehålla likaledes betydliga mängder qväfve, men deras bildning vid digestionen synes ej med säkerhet vara ådagalagd. Under sådana förhållanden synes en undersökning af digestionsprodukterna särskildt med afseende på basiska produkter ej sakna sitt intresse. Att basiska produkter bildas vid pankreasdigestionen, blir ej mindre sannolikt derigenom, att det på de sista åren lyckats DRECHSEL och hans lärjungar att ur ägghvita af olika slag äfvensom ur lim och horn efter kokning med saltsyra och tennklorur erhålla basiska kroppar. Öfverhufvud synes nemligen en ganska stor öfverensstämmelse råda mellan de produkter, som bildas vid ägghvitans sönderdelning med saltsyra och vid sönderdelning med trypsin. Frånsedt, att klyfningen med saltsyra, då kokningen fortsättes tillräckligt länge, går vida längre, så att intet pepton kvarstår oförändradt, äro flera af klyfningsprodukterna gemensamma för båda processerna. Så har man på båda sätten erhållit tyrosin, leucin, asparaginsyra och ammoniak, såvida vi få antaga såsom bevisadt, att den sistnämnda föreningen verkligen bildas vid digestionen. Glutaminsyra, som erhållits vid digestion af vege-

¹⁾ Compt. rend., 115, p. 764.

tabilisk ägghvita, utgör äfven en sönderdelningsprodukt med saltsyra. Då så är, har jag verkställt undersökningar för att utröna, huruvida de af Drechsel genom kokning af kasein med saltsyra upptäckta basiska kropparne lysin och lysatinin äfven bildas vid trypsindigestionen. Med afseende på de metoder, som användts för framställning af lysin och lysatinin, må erinras, att Drechsel ¹⁾ fällde reaktionsvätskan med fosforwolframsyra, sönderdelade fällningen med barythydrat, aflägsnade barytöfverskottet och till den så erhållna alkaliska lösningen satte saltsyra. Af de så erhållna kloriderna isolerade han en i alkohol olöslig del, som gaf kristaller af sammansättningen $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl$ — lysinklorid. Med platinaklorid gaf denna förening ett i alkohol och eter olösligt dubbelsalt $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4 + HOC_2H_5$. Ur moderluten från lysinkloriden kunde erhållas ett silfversalt af sammansättningen $C_6H_{13}N_3O_2 \cdot HNO_3 + AgNO_3$, ett dubbelsalt af lysatininnitrat med silfvernitrat. Ungefär samma metod använde FISCHER ²⁾ för att påvisa lysin och lysatinin i klyfningsprodukterna af lim med saltsyra. SIEGFRIED förfor vid undersökning af ägghvita delvis efter en annan metod än Drechsel ³⁾. Lösningen af de med barythydrat ur fosforwolframsyrefällningen frigjorda basiska kropparne försattes med silfvernitrat, så länge fällning bildades; derpå filtrerades och koncentrerades lösningen samt försattes med alkohol i små portioner. Dervid bildades först en oljliknande fällning på kärlets botten samt sedermera hvita kristallnålar. Ur den oljliknande massan kunde efter silfrets aflägsnande och koncentrering af lösningen erhållas ett med alkohol och eter fällbart platinadubbelsalt af samma sammansättning som Drechsels lysinplatinaklorid. De hvita kristallnålarne utgjorde efter rening lysatinindubbelsalt. Vid mina egna undersökningar af hornsubstansens klyfningsprodukter med saltsyra ⁴⁾ förfor jag först efter Siegfrieds metod men erhöi i stället för den oljliknande fällningen med silfvernitrat och alkohol en massa, som snart blef temligen fast och ur hvilken jag ej enligt Siegfrieds förfaringssätt lyckades erhålla något lysinplatinasalt. Först sedan jag af de deri ingående föreningarna framställt klorider och af dessa afskilt den i alkohol svårlösliga delen, lyckades jag ur denna framställa en ringa mängd platinasalt. Ur den i alkohol lösliga delen af kloriderna kunde sedan lysatinin-

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem., Bd. 39 (1889), p. 425.

²⁾ Ueber neue Spaltungsprodukte des Leims. Inaug. diss. Leipzig 1890.

³⁾ Ber. d. deutsch. Chem. Ges., Bd. 24 (1891), p. 418.

⁴⁾ Lunds univ. årsskr., T. 29.

silfversalt erhållas. Den af alkohol utfällda halffasta massan af silfverföreningar innehöll alltså både lysin och lysatinin. Vid fortsatta undersökningar visade det sig ändamålsenligt att ur den med silfverniträt försatta och från den dervid bildade fällningen filtrerade lösningen af de basiska kropparne först aflägsna största delen af lysatininet, hvilket i detta fall med lätthet låter sig göra genom att koncentrera lösningen och låta den kristallisera. Ur moderluten kan sedan lysinet erhållas genom att isolera den i alkohol olösliga delen af kloriderna och deraf framställa platinasalt.

De undersökningar, som jag anställt öfver produkterna af trypsindigestionen, påbörjades i Leipzig å Drechsels laboratorium år 1890. Ett förelöpande meddelande öfver desamma har redan publicerats dels i Sitzungsber. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss. (d. 23 April 1891), dels i Archiv f. Anat. u. Physiol., Bd. 15, p. 273, i sammanhang med Drechsels, Siegfrieds och Fischers undersökningar. För fullständighetens skull inryckas äfven de deri meddelade rönen i följande framställning.

Då det på grund af andras försök är tillräckligt ådagalagdt, att okokt fibrin lättast af alla undersökta ägghvitekroppar löses af trypsin och sannolikt också därför undergår en grundligare klyfning än andra ägghvitekroppar, har jag vid mina digestionsförsök användt denna form af ägghvita. Fibrinet har framställt af nötkreatursblod på det sätt, att de under vispning afskilda blodlefrarne tvättats med flytande vatten under ett par dygn och derefter öfvergjutits med 5 procents koksaltlösning, som fått inverka under ett dygn, hvar efter den ersatts af ny saltlösning. Slutligen har fibrinet ånyo tvättats med vatten under flera dagar samt vanligen före digestionsförsökets början under någon tid förvarats på glycerin. Vid några digestionsförsök, hvarvid salicylsyra (1: 500) användts för att hindra förruttelse, har jag nemligen funnit, att förruttelse ej så lätt inträder, då fibrinet förvarats å glycerin. Salicylsyran i och för sig synes nemligen ej vara tillräcklig för att under alla förhållanden hindra förruttelseorganismers utveckling, om digestionen fortsättes en längre tid. Sannolikt verkar glycerinet dödande på de mikroorganismer, som innehållas i fibrinet. Vid de digestionsförsök, som här nedan omtalas, har jag emellertid alltid användt thymol för att hindra utveckling af förruttelsemikroorga-

nismer och vid digestionens slut aldrig kunnat med luktorganet märka spår af förruttnelse, oaktadt digestionen fortsatts under en veckas tid.

Trypsinlösning har jag framställt af enligt Kühnes föreskrift beredt pankreaspulver genom att vid vanlig temperatur extrahera detsamma med 6-dubbla mängden 0,1 procentig salicylsyrelösning. Efter 24 timmar filtrerades, något som gick ytterst långsamt. Merendels har jag före filtreringen silat genom en tät duk, hvarigenom filtreringen i någon mån underlättats. Genom förnyad extraktion af pankreaspulvret med 4 dubbla mängden salicylsyrelösning har jag erhållit en äfvenledes kraftigt digererande fermentlösning. Filtraten hafva före digestionen noga neutraliserats med soda. I allmänhet har jag till 3000 gram med handen utpressadt fibrin använt pankreasextrakt af 100 gram pankreaspulver. Vid ett digestionsförsök har jag använt trypsin, framställt enligt Loews föreskrift ¹⁾ genom att låta den med sand rifna körteln stå ett par dagar och derpå extrahera under 2 dygn vid vanlig temperatur med 1 $\frac{1}{2}$ del 40 procentig alkohol; den alkoholiska lösningen fälldes med en blandning af 2 vol. absol. alkohol och en vol. eter; fällningen torkades mellan papper, löstes i vatten, filtrerades, fälldes ånyo med alkohol + eter och torkades öfver svafvelsyra. Derpå löstes i vatten, filtrerades och fälldes försigtigt med utspädd blyättika för att aflägsna ägghvita; ur filtratet aflägsnades blyet med svafvelväte, hvarpå lösningen ånyo fälldes med alkohol + eter, och fällningen torkades öfver svafvelsyra. På detta sätt erhålles ett mycket kraftigt ferment men ytterst ringa utbyte. Loew erhöll 0,2 pCt af körtelsubstansens vikt och jag erhöll 0,3 pCt. Då dess utom åtgår mycket stora mängder alkohol och eter, har jag sedermera återgått till användning af Kühnes pankreaspulver, som ger ett mycket kraftigt digererande extrakt.

Fosforwolframsyra, som jag i likhet med Drechsel använt för utfällning af de basiska kropparne, har jag framställt genom extraktion med eter enligt Drechsels förfaringssätt ²⁾, dock med den ändring, att jag före tillsats af eter aflägsnat en stor del af salterna. 4 delar wolframsyradt natron och 1 del fosforsyradt natron löstes under uppvärmning i så litet vatten som möjligt, under det vätskan neutraliserades med svafvelsyra. Allt fick stå ungefär 12 timmar, hvarunder en riklig mängd svafvelsyradt natron utkri-

¹⁾ Pflügers Arch. f. d. ges. Phys., Bd. 27, p. 203.

²⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 20, p. 1452

stalliserade. Detta silades från lösningen, löstes i litet vatten och fick kristallisera ännu en gång. Båda filtraten förenades, späddes betydligt med vatten och försattes i skiljetratt med svafvelsyra och eter samt omskakades, då eterlösningen af fosforwolframsyran sjönk till botten och kunde frånskiljas, hvarpå etern afdestillerades under tillsats af vatten. Den så erhållna syran kristalliserar utmärkt vackert i oktaëdrar. En temligen koncentrerad vattenlösning deraf fälles vid tillsats af stark svafvelsyra eller saltsyra under bildning af mikroskopiska kristaller, som än hafva formen af oktaëdrar, än af fina nålar. Ur fosforwolframsyrad baryt, som under arbetets gång erhålles, då fosforwolframsyrans föreningar med basiska kroppar och med pepton sönderdelas med barythydrat, kan syran med fördel frigöras genom uppvärmning med svafvelsyra. Dock måste man härvid iakttaga, att denna ej tages starkare än ungefär 10 pCt, emedan i annat fall den frigjorda fosforwolframsyran delvis utfälles.

Jag öfvergår nu till redogörelsen för sjelfva digestionsförsöken, och alldenstund jag vid olika försök användt olika undersökningsmetoder, beskrifves hvarje försök för sig.

Digestionsförsök 1.

3000 gr. med handen utpressadt fibrin fördelades i tvenne kolfvar, hälften i hvarje; i hvarje kolf hälldes 4 liter 0,25 procentig sodalösning, 4 gr. thymol i koncentrerad spritlösning samt på ofvan angifvet sätt beredt extrakt af 50 gram pankreaspulver. Kolfvarne försågos med proppar af ren bomull och värmdes under en vecka till ungefär 40° i vattenbad. Efter denna tid gaf ett neutraliseradt, kokt och filtreradt prof af lösningen vid mättning med svafvelsyrad ammoniak blott en obetydlig grumling, sannolikt härrörande från det vid kokningen sönderdelade trypsinet. Digestionsvätskan hade en angenäm lukt — ej ett spår af förruttelse kunde iakttagas. Nu koktes hela lösningen och filtrerades; filtratet neutraliserades noga med saltsyra och försattes med qvicksilfverklorid för att aflägsna hufvudmassan af antipeptonet. Fällningen fränfiltrerades; filtratet, som reagerade surt, neutraliserades noga med soda, hvarvid åter någon fällning bildades, som fränfiltrerades, hvarpå qvicksilfret fälldes ur filtratet med svafvelväte. Filtratet från svafvelqvicksilfret gaf efter neutralisering ingen fällning med qvicksilfverklorid. Lösningen försattes med svafvelsyra till ungefär 10 pCt, värmdes till kokning och försattes med

en likaledes kokhet lösning af fosforwolframsyra. På grund af ett särskildt prof hade jag på förhand beräknat, huru mycket fosforwolframsyra som borde åtgå för hufvudlösningens fullständiga utfällning. Till en del fibrin behöfdes ungefär lika mycket kristalliserad syra. Genast bildades fällning, som vid afsvälning ökades, så att vätskan efter 12 timmar var nästan utfylld af fällningen. I fällningen syntes under mikroskopet inga kristaller utan blott en otydlig kristallinisk struktur. Vätskan fränsögs, och fällningen tvättades med vatten, som innehöll 5 pCt svafvelsyra och 10 pCt kristalliserad fosforwolframsyra. Under uttvättningen iaktogs, att oljlika droppar gingo med tvättvattnet genom filtrum och i filtratet samlade sig till en seg, småningom stelmande massa på kärlets botten. Tvättningen fortsattes, tills tvättvattnet gick klart igenom. Derpå uppslammades fällningen i vatten, som upphettades till kokning, då en del af fällningen löstes. Till den kokande vätskan sattes barythydrat — i början i substans och sedermera i varm vattenlösning, tills vätskan innehöll ett ringa öfverskott deraf. Derpå filtrerades, filtratet mättades med kolsyra, koktes och filtrerades. Den så erhållna lösningen reagerade alkaliskt och hade en egendomlig, ej oangenäm lukt.

Den alkaliska lösningen neutraliserades med saltsyra, koncentrerades och fick sedan fritt indunsta till sirup; denna visade dock ej ens efter flera veckor tecken till kristallisation. Den gaf ganska stark biuretreaktion och innehöll således pepton. För att aflägsna detta späddes med vatten och fälldes varmt med en lösning af bariumvismutjodid. Ur filtratet aflägsnades vismut med svafvelväte, baryt genom jemn utfällning med svafvelsyra och jod med kopparoxidul, hvarpå något koppar, som genom oxidation gått i lösning, fälldes med svafvelväte. Lösningen gaf nu med kopparvitriol och natronlut blott en svag violett färgning, som emellertid försvann vid kokning och således ej kunde härröra från pepton. Lösningen koncentrerades starkt samt försattes med något saltsyra och alkohol, hvarvid en sirup småningom afskilde sig. Vätskan afhölls, och bottensatsen behandlades med absolut alkohol, så länge något deraf gick i lösning. Derpå löstes i litet vatten och försattes med platinaklorid samt med alkohol till ungefär 60 pCt. Härvid afskilde sig i ringa mängd ett gult pulver, som fränfiltrerades och efter omkristallisering ur vatten visade sig bestå af mikroskopiska oktaëdrar och därför sannolikt utgjordes af kalium eller ammoniumplatinaklorid. Det alkoholiska filtratet från detta salt försattes efter hand med alkohol i små portioner, hvarvid en grumling uppstod, som afsatte sig å

kärlets botten i form af en tjock olja. Denna utfälldes fullständigt ur lösningen med eter. Sedan den klarnade lösningen afhäls, öfvergöts oljan med absolut alkohol, hvori en del löstes, under det fina kristallnålar afskilde sig. Det olösta fränfiltrerades och löstes i litet vatten, hvarefter tillsattes alkohol, då åter en oljliknande fällning bildades. Det visade sig ytterst svårt att få en kristalliserande produkt. Efter flera fåfänga försök lyckades jag slutligen på det sätt, att något platinaklorid tillsattes och derefter alkohol till svag kvarstående grumling. Att omkristallisera föreningen visade sig äfvenledes mycket vanskligt. Saltets framställande var ytterst tidsödande, och jag var under flera veckor sysselsatt med detsamma, innan jag lyckades erhålla en för analys tillräckligt ren produkt.

I ren form är saltet ytterst deliquescent; det kristalliserar i vackra gula nålar och liknar fullständigt den af Drechsel m. fl. erhållna lysinplatinakloriden. Att det har samma kvantitativa sammansättning som denna, framgår af följande analyser:

1. 0,2034 gr. gaf 0,0665 gr. Pt, 0,1198 gr. $\text{CO}_2 = 0,03267$ gr. C och 0,0623 gr. $\text{H}_2\text{O} = 0,00692$ gr. H.

2. 0,2402 gr. gaf 10,1 cm^3 N vid 10° och 764 mm. Hg. $= 0,01216$ gr. N.

Eller i procent enligt formeln $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{PtCl}_4 + \text{HO} \cdot \text{C}_2\text{H}_5$.

	Ber.		Fun.	
			1.	2.
Pt	194,3	32,36	32,69	—
C ₈	96	15,99	16,06	—
H ₂₂	22	3,66	3,40	—
N ₂	28	4,66	—	5,06
Cl ₆	212,2	35,34	—	—
O ₃	48	7,99	—	—
	609,5	100.		

Den i alkohol lösliga kloridmängden, som borde innehålla lysatinin, såvida detta ämne öfverhufvud bildas vid trypsindigestionen, gick genom olyckshändelse förlorad.

Digestionsförsök 2.

3000 gram fuktigt fibrin digererades med trypsin, och lösningen fälldes med sublimat och med fosforwolframsyra som förut. Fosforwolframsyrefällningen

sönderdelades med barythydrat, och öfverskottet af detta aflägsnades såsom kolsyrad baryt. Den så erhållna alkaliska lösningen behandlades enligt Siegfrieds metod för lysinets och lysatininets isolering. Vid tillsats af silfverniträt bildades en ej synnerligen riklig fällning, som fränfiltrerades. För fullständig utfällning erfordrades ungefär 80 gr. silfversalt. Filtratet indunstades på vattenbad till ringa volum och fälldes med alkohol i små portioner. Härvid bildades först en oljliknande fällning på kärlets botten och efter tillsats af stora mängder alkohol slutligen en kristalliserande förening. Då denna började bildas, afhölldes vätskan från bottensatsen och fälldes med små portioner eter, så länge kristallnålar bildades (om dessa se nedan). Den oljliknande bottensatsen löstes i vatten, och silfret fälldes med svafvelväte. Filtratet indunstades till ringa volum och försattes med platinaklorid samt alkohol för erhållande af lysinplatinaklorid på sätt i försöket 1 blifvit angifvet. Det erhållna saltet var rent, sedan det omkristalliserats 4 gånger. Det hade fullständigt samma utseende som det ofvan beskrifna. Analys af öfver svafvelsyra torkadt salt:

1. 0,2591 gr. gaf 0,0836 gr. Pt = 32,27 pCt.
2. 0,2695 gr. gaf 0,1538 gr. CO₂ = 0,04195 gr. C = 15,57 pCt och 0,0839 gr. H₂O = 0,00932 gr. H = 3,46 pCt.

Dessa procenttal stämma som man ser väl öfverens med de för lysinplatinaklorid beräknade talen (Pt = 32,35 pCt, C = 15,99 pCt och H = 3,66 pCt). Den öfriga mängden af det erhållna saltet (ungefär 28 gram) löstes i vatten, platina fälldes med svafvelväte, af svafvelplatinan bildad svafvelsyra fälldes jemt med klorbarium, lösningen koncentrerades till ringa volum och försattes försigtigt med alkohol. Härvid afskilde sig kloriden som en olja på kärlets botten, och först efter flera fruktlösa försök lyckades jag erhålla den i kristaller. Dessa utgjordes af nålar, som voro grupperade samman i vårtlika sammangyttringar. Då kristallisationen kommit i gång, tillsattes eter för saltets fullständiga afskiljande.

Analys:

0,2872 gr. öfver svafvelsyra torkadt salt gaf 0,3212 gr. CO₂ = 0,09305 gr. C och 0,1854 gr. H₂O = 0,0206 gr. H. Formeln C₆H₁₄N₂O₂ · 2HCl fordrar i procent:

		Ber.	Fun.
C ₆	72	32,92	33,45
H ₁₆	16	7,32	7,30
N ₂	28	12,80	—
Cl ₂	70,7	32,33	—
O ₂	32	14,63	—
	218,7	100.	

Föreningen har således samma kvantitativa sammansättning som det af Drechsel och Siegfried på annan väg funna lysinet. Då härtill kommer, att kloridens lösning är högervridande liksom lysinkloridens, så kan intet tvifvel råda om att här föreligger lysin.

Den från den oljliknande fällningen af silfverföreningen afhållda lösningen gaf såsom ofvan anförts vid fortsatt tillsats af något alkohol och eter en kristalliserande förening. Denna omkristalliserades tre gånger genom lösning i litet vatten samt tillsats af alkohol och eter. Den erhöles så i fina, hvita, lätta nålar. På grund af utseendet och framställningssättet väntade jag, att detta salt skulle visa sig identiskt med Drechsels lysatinindubbelsalt, som af Siegfried framställt enligt den af mig här använda metoden. Analysen gaf emellertid värden, som ej öfverensstämde med formeln för detta salt. De funna procenttalen voro nemligen Ag = 25,82, C = 20,68 och H = 4,39, under det formeln C₆H₁₃N₃O₂ · HNO₃ + AgNO₂ fordrar Ag = 27,55, C = 18,36 och H = 3,57. Den erhållna kvantiteten var emellertid allt för liten för ytterligare rening.

Den alkohol-eteriska moderluten från detta salt visade en ganska stark blåviolett fluorescens. För att om möjligt isolera den fluorescerande substansen afdestillerade jag alkoholen och etern i vacuum vid låg temperatur; ur återstoden fälldes silfret med svafvelväte. Filtratet från svafvelsilfret gaf stark fluorescens. Då det gjordes alkaliskt med natronlut, försvann fluorescensen; emellertid kunde den fluorescerande substansen nu utdragas genom skakning med eter. Vid eterns frivilliga afdunstning bildades en brunfärgad återstod, som delvis löstes i saltsyra. Denna lösning visade efter stark utspädning och särskildt efter tillsats af några droppar svafvelsyra mycket stark fluorescens. Då den saltsura lösningen fick afdunsta öfver svafvelsyra, afskilde sig först bruna kristallsammangyttringar och sedan färglösa mikroskopiska nålar; vid fortsatt afdunstning färgades emellertid hela lösningen brun. De afskilda kristallerna löstes i alkohol och försattes med en alkoholisk lösning af platinaklorid,

hvarvid en brungul kristallinisk fällning bildades. Den erhållna kvantiteten var emellertid för ringa för vidare undersökning.

Att döma af de anförda egenskaperna synes den fluorescerande substansen vara identisk med eller åtminstone stå ganska nära en alkaloidartad kropp, som DUPRÉ och BENGE JONES påvisat i alla organ af den animala organismen¹⁾. Denna kropp extraherades med utspädd svafvelsyra, lösningen gjordes alkalisk och utskakades med eter, som upptog den alkaloidartade kroppen. En sur lösning af denna fälldes af fosformolybdensyra och af platinaklorid. Om den fälldes af fosforwolframsyra uppgifves ej. Föreningens mest utmärkande egenskap var den blå fluorescens, som dess lösning efter tillsats af svafvelsyra visade, hvarför den också af Dupré och B. Jones benämndes animal chinoidin. Af densamma lyckades de ej isolera någon vägbär kvantitet.

För öfrigt har KISTIAKOWSKY²⁾, som ur digestionsprodukterna af fibrin med pankreasferment framställt pepton genom fällning med alkohol, observerat, att peptonets vattenlösning visade tydlig fluorescens, sannolikt beroende på den af mig funna substansen.

Digestionsförsök 3.

3000 gram fuktigt fibrin digererades som förut, och reaktionsprodukten behandlades såsom vid försöket 2 för att möjligen erhålla mera af det kristalliserande silfversaltet. Emellertid erhöll jag intet sådant salt. Vid tillsats af alkohol till den med silfverniträt försatta och derefter filtrerade och koncentrerade lösningen erhöles blott en tjockflytande bottensats utan att någon kristalliserande produkt visade sig. Vid försök att, på sätt vid försöket 2 angifvits, ur den silfverhaltiga bottensatsen erhålla lysinplatinaklorid lyckades jag ej erhålla några kristaller, oaktadt förfaringssättet på flera sätt varierades. Lösningen kom sedan att behandlas tillsammans med motsvarande lösning vid följande digestionsförsök, då jag på nedan angifvet sätt lyckades få en kristalliserande produkt.

Digestionsförsök 4.

Härvid togs som förut i arbete 3000 gr. fuktigt fibrin, som fördelades på tvenne kolfvar. I detta fall användes trypsin, som blifvit beredt enligt Loews

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 7 (1874), p. 1491.

²⁾ Pfügers Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. 9, p. 438.

metod (se sid. 12). För framställning af trypsin användes inalles 3000 gr. pankreaskörtel af nötkreatur. Digestionen fortsattes blott 4 dygn, emedan efter denna tid ammoniumsulfat blott gaf en obetydlig grumling. Reaktionsvätskan fälldes som förut med qvicksilfverklorid. För undersökningen af fällningen (A) redogöres längre ned. Filtratet befriades från qvicksilfver, surgjordes och fälldes med fosforwolframsyra. Då fällningen uttvättades, bildades likasom vid de föregående försöken en seg massa på botten af de kärl, der tvättvattnet uppsamlades. Denna massa togs för sig och afhandlas längre ned under benämningen B. Fosforwolframsyrefällningen sönderdelades med barythydrat, och barytöfverskottet aflägsnades såsom kolsyradt salt. Emellertid gaf filtratet från kolsyrad baryt en svag fällning för svafvelsyra, sannolikt beröende på närvaron af en ringa mängd amidosyror. Filtratet från den kolsyrade baryten gjordes surt med saltsyra, indunstades till ringa volum, fälldes med alkohol, och den syrupösa fällningen utkoktes upprepade gånger med absol. alkohol. De alkoholiska lösningarna togos tillsammans och behandlas nedan under benämningen C.

Den i alkohol olösliga kloridmängden löstes i vatten, koktes med blyoxidhydrat för aflägsnande af saltsyran och filtrerades; ur filtratet aflägsnades bly med svafvelväte; filtratet från svafvelbly försattes efter kokning med silfverniträt, då en mörkfärgad fällning bildades (D). Filtratet fälldes med svafvelväte, salpetersyran aflägsnades ur filtratet från svafvelsilfret genom kokning med blyoxidhydrat, blyet aflägsnades ur det nya filtratet med svafvelväte, hvarefter den starkt koncentrerade lösningen försattes med platinaklorid och alkohol för erhållande af lysinplatinaklorid. Emellertid lyckades jag ej heller nu erhålla någon kristalliserande produkt; vid tillsats af alkohol afskilde sig blott en brun olja, som ej afsatte några kristaller. För att möjligen erhålla en renare produkt fällde jag platina med svafvelväte; filtratet från svafvelplatinan fälldes varmt med en varm lösning af fosforwolframsyra. Vid afsvälning erhöles en af vackra mikroskopiska nålar bestående fällning; dessutom observerades dock ett otydligt, kristalliniskt pulver. Fällningen behandlades på vanligt sätt med barythydrat. Efter barytöfverskottets aflägsnande gaf den svagt alkaliska lösningen med silfverniträt en flockig fällning, som åtminstone till största delen bestod af kolsyrad silfveroxid. Silfret fälldes ur lösningen med svafvelväte och största delen af salpetersyran med blyoxidhydrat, hvarefter förfors som förut för erhållande af lysinplatinasaltet, hvilket nu med lätthet erhöles i kristaller. Vid tillsats af eter bildades till slut en hvit grumling, som emellertid

löstes vid tillsats af absolut alkohol. Eter tillsattes för den skull blott så länge som den deraf alstrade fällningen ej fullständigt löstes vid tillsats af absolut alkohol. Saltet omkristalliserades 3 gånger och tvättades efter hvarje omkristallisering med absol. alkohol. Då saltet torkades öfver svafvelsyra, blefvo kristallerna småningom glanslösa och fingo ett vittradt utseende. Efter ungefär 1 $\frac{1}{2}$ månads förvaring öfver svafvelsyra, under hvilken tid saltet tillika var utsatt för direkt solvärme, hade kristallalkoholen fullständigt bortgått, och saltet hade utseende af ett brunt pulver.

Analys:

1. 0,2035 gr. gaf 0,0719 gr. Pt., 0,0964 gr. $\text{CO}_2 = 0,02629$ gr. C och 0,0548 gr. $\text{H}_2\text{O} = 0,00609$ gr. H.

2. 0,3264 gr. gaf 14,3 cm^3 N vid 8° och 744 mm. Hg. = 0,01683 gr. N.

3. 0,1489 gr. smältes med soda och salpeter och gaf 0,2288 gr. AgCl 0,05658 gr. Cl. Eller i procent enligt formeln $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{PtCl}_4$.

Ber.			Fun.		
			1.	2.	3.
Pt	194,3	35,04	35,33	—	—
C_6	72	12,98	12,91	—	—
H_{16}	16	2,89	2,99	—	—
N_2	28	5,05	—	5,16	—
Cl_6	212,2	38,27	—	—	38,00
O_2	32	5,77	—	—	—
	554,5	100.			

Moderluten från platinasaltet värmdes för aflägsnande af eter och alkohol, hvarefter platinan fälldes med svafvelväte. Filtratet från svafvelplatinan förenades med lösningen af den med alkohol extraherade kloridmängden C. Lösningen koktes med blyoxidhydrat för aflägsnande af saltsyran, och det lösta blyet aflägsnades med svafvelväte. Filtratet, som reagerade starkt alkaliskt indunstades till nära syrupskonsistens. På grund af förfaringssättet kunde jag vänta, att denna syrup skulle innehålla det lysatinin, som möjligen bildats vid digestionen. Då jag dess utom vid mina undersökningar af hornsubstansens klyfningsprodukter vid kokning med saltsyra funnit, att det fria lysatininet ur en mycket koncentrerad vattenlösning fälles af alkohol ¹⁾, försökte jag äfven

¹⁾ Bidrag till kännedomen om hornsubstansens klyfningsprodukter, p. 9. Lunds Univ. Årsskrift, T. 29.

här att fälla med alkohol. Emellertid lemnade alkoholen blott en ringa del af syrupen olöst, och jag kunde således ej vänta mig någon betydligare mängd lysatinin. Den i alkohol olösliga delen löstes i vatten, neutraliserades med salpetersyra och försattes med silfverniträt. Med alkohol och eter erhöles blott några få kristaller. Lika litet lyckades jag ur den i alkohol lösliga delen af syrupen genom samma behandling erhålla någon kristalliserande produkt. Båda kvantiteterna förenades därför, alkohol och eter afdestillerades, silfret fälldes med svatvelväte, och filtratet från svafvelsilfret befriades från salpetersyra med blyoxidhydrat på ofvan angifvet sätt. Det alkaliska filtratet från svafvelblyet indunstades till syrupskonsistens och gaf under lång förvaring öfver svafvelsyra inga kristaller; eter upptog derur ingenting. Syrupen späddes med vatten och försattes med silfverniträt utan att först neutraliseras. Härvid bildades en ringa, brunsvart fällning (sannolikt till en del svafvelsilfver, bildadt af organiska sulfider), som fränfiltrerades. Ur filtratet afsatte sig efter koncentrerings nålformiga kristaller. Dessa omkristalliserades ett par gånger ur vatten och fälldes derpå tvenne gånger ur koncentrerad vattenlösning med alkohol och eter. Så erhöles ett bländande hvitt salt, bestående af mikroskopiska kristaller, hvilka voro ganska svårlösliga i vatten. Analyserna af detta salt öfverensstämma, oafsedt qväfvehalten, som funnits något för låg, med formeln $\text{AgC}_4\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_4$. De funna och beräknade procenttalen äro nemligen:

	Fun.			Ber.
	1.	2.	3.	
Ag	39,43	29,57	—	39,71
C	17,55	—	—	17,65
H	3,69	3,65	—	3,67
N	—	—	14,77	15,44

Af analysen framgår, att föreningen ej var lysatininsalt. Huru vida här föreligger en enhetlig produkt, måste för öfrigt lemnas tills vidare oafgjordt. Då jag emellertid, såsom längre fram skall visas, genom att koka rent lysatinin med blyoxidhydrat och till produkten sätta silfverniträt erhållit kristalliserande produkter, som till sin sammansättning närmat sig den här analyserade produkten, så vore det tänkbart, att densamma vore en sönderdelningsprodukt af lysatinin, uppkommen vid kokningen med blyoxidhydrat.

Den ofvan under benämningen B omtalta massan, som vid fosforwolfram-syrefällningens uttvättning följde med tvättvattnet såsom oljdroppar och sedan

samlade sig å kärlets botten såsom en klibbig beläggning, löstes i kokande vatten, något som blott med svårighet lät sig göra. Lösningen gaf med barythydrat en ymnig fällning; barythydratet tillsattes, så länge fällning bildades, och dess utom i något öfverskott. Fällningen, som visade alla egenskaper af fosforwolframsyrad baryt, fränfiltrerades, i filtratet inleddes kolsyra, hvarpå vätskan koktes. Sedan all kolsyrad baryt afskilt sig, filtrerades. Lösningen, som reagerade alkaliskt, gaf stark reaktion på baryt med svafvelsyra. Baryten fälldes jemt med svafvelsyra; filtratet reagerade nu svagt surt. Vid koncentrering afskilde sig först vackra kristallnålar och sedan en massa, som under mikroskopet visade utseendet af runda, i kanten taggiga sammangyttringar. Kristallnålarne renades genom omkristallisering ur ammoniakalisk alkohol, tor-kades vid 100° och analyserades:

1. 0,2336 gr. gaf 0,5132 gr. $\text{CO}_2 = 0,13996$ gr. C och 0,1368 gr. H_2O 0,0152 gr. H.

2. 0,1098 gr. gaf 0,2412 gr. $\text{CO}_2 = 0,06578$ gr. C och 0,0596 gr. H_2O = 0,00662 gr. H.

Af analyserna framgår att föreningen var tyrosin. Formeln för tyrosinet $\text{HOCO} \cdot \text{C}^2\text{H}^3 \cdot \text{NH}^2 \cdot \text{C}^6\text{H}^4\text{OH}$ ger nemligen följande procenttal:

Ber.			Fun.	
			1.	2.
C ₉	108	59,67	59,91	59,99
H ₁₁	11	6,08	6,50	6,03
N	14	7,73	—	—
O ₃	48	26,52	—	—
	181	100.		

Föreningens identitet med tyrosin bevisades ytterligare genom reaktion med Millons reagens. Mängden erhållet tyrosin var 0,7 gr.

Den ur moderluten från tyrosinet vid koncentrering afskilda massan kokades med alkohol, hvari den efter hand fullständigt löstes. Vid alkoholens afsvälning afskilde sig mikroskopiska bollar af fullständigt samma utseende som orent leucin, hvarmed väl öfverensstämmer, att föreningen vid uppvärmning med benzoylchlorid och natronlut gaf en produkt, som vid lösningens surgöring utfälldes och efter lösning i vatten kunde fås i nålformiga kristaller ¹⁾.

¹⁾ Se Hedin: Einige Condensationsprodukte von Amidösäuren mit Benzolsulfonchlorid. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 23 (1890), p. 3196.

Moderluten från leucinet reagerade surt och gaf vid indunstning inga kristaller. Med silfverniträt gaf den vid neutralisering med ammoniak en flockig och sedermera något klibbig fällning. Denna uppslammades i vatten och sönderdelades med svafvelväte. Filtratet från svafvelsilfret reagerade starkt surt men kunde ej fås att kristallisera — ej ens sedan syran ännu ett par gånger fällts med silfverniträt och ammoniak. Efter den sura lösningens indunstning till sirup var denna fullständigt löslig i alkohol. I denna lösning gaf eter en obetydlig, flockig fällning. Sannolikt är den med silfverniträt fällbara substansen identisk med en längre fram tillsammans med amidosyrorna ur filtratet från fosforwolframsyrefällningen omnämnd syra, som äfvenledes ger ett i vatten olösligt silfversalt.

Fällningen med qvicksilfverklorid (A, se sid. 19) uppslammades i vatten och sönderdelades genom inledning af svafvelväte. Filtratet från svafvelqvicksilfret befriades på vanligt sätt från klorväte med blyoxidhydrat. Filtratet från svafvelblyet gaf stark biuretreaktion och reagerade alkaliskt. Vid dess koncentring utvecklades lukt af ammoniak, hvilken lukt efter hand försvann. Ur den koncentrerade lösningen afsatte sig en ringa mängd leucinliknande kristaller. En del af den till sirup indunstade lösningen var löslig i alkohol men största delen olöslig. Vattenlösningen gaf med fosforwolframsyra en ymnig fällning och likaså med silfverniträt. Hela lösningen fälldes med silfverniträt, och fällningen förenades med den ur den stora fosforwolframsyrefällningen erhållna amorfa fällningen med silfverniträt (D, se sid. 19). Efter fördelning i vatten sönderdelades silfverföreningarna genom inledning af svafvelväte. Filtratet från svafvelsilfret denitrerades med blyoxidhydrat, filtratet från svafvelblyet försattes med saltsyra, indunstades till nära sirupskonsistens och fälldes med alkohol i små portioner. Härvid afskilde sig först en klibbig fällning, sedermera en flockig sådan samt slutligen efter tillsats af eter ett fåtal väl utbildade prismatiska kristaller. Vid fortsatt tillsats af eter afskilde sig på kärlets botten en sirupliknande massa, som under månaders förvaring afskilde nålformiga kristaller. Den erhållna mängden var emellertid allt för ringa för rening och analys.

Digestionsförsök 5.

3000 gr. fuktigt fibrin digererades som förut. Efter en veckas digestion uppkoktes vätskan och filtrerades. Då filtratet fick afsvälva och stå någon tid,

afskilde sig ur den ljusbruna lösningen en gråhvit, kornig fällning, som vid mikroskopisk undersökning visade sig bestå af runda korn, liknande orent leucin samt kristallnålar i sparsam mängd (A). Filtratet härifrån försattes med svafvelsyra till 5 pCt och fälldes *kallt* med en *kall* lösning af fosforwolframsyra. Fällningen lemnades att sjunka till botten, vätskan dekanterades, fällningen omskakades med 5 procentig svafvelsyra, som innehöll 5 pCt fosforwolframsyra, och tvättades slutligen på filtrum med svafvelsyra, försatt med fosforwolframsyra. Derpå sönderdelades den på vanligt sätt med barythydrat i möjligast ringa öfverskott, hvilket aflägsnades såsom kolsyradt salt. Lösningen reagerade svagt alkaliskt, gaf stark biurereaktion, innehöll något baryt, gaf med qvicksilfverklorid en riklig, hvit fällning, med alkohol och ännu mera med alkohol + eter en hvit flockig fällning, med blyättika eller blysocker blott en grumling, med garfsyra en ymnig fällning, som dock löstes af ättiksyra, med pikrinsyra en temligen betydlig grumling. Svafvelsyrad ammoniak gaf i fullt mättad vätska en knappt synbar grumling. Vid tillsats af bromvatten erhöles en mycket voluminös fällning, som snart samlade sig å kärlets botten. Lösningen fälldes med qvicksilfverklorid under neutralisering med natronlut. Fällningen (B) tvättades dels genom dekantering, dels på filtrum och behandlades sedan på nedan angifvet sätt. I filtratet fälldes qvicksilfret med svafvelväte; det nya filtratet neutraliserades med natronlut och koncentrerades, tills klornatrium började utkristallisera. Det gaf svag biurereaktion och gaf äfven en ej så obetydlig fällning med qvicksilfverklorid. Efter spädning med vatten och surgöring fälldes ånyo med fosforwolframsyra utan uppvärmning, och fällningen behandlades som vanligt. Filtratet från den kolsyrade baryten försattes med silfvernitratt, filtrerades från den temligen betydliga fällningen (C), koncentrerades och försattes med alkohol i små portioner. Härvid erhöles först en klibbig fällning (D) och sedan fina oljdroppar, som ej flöto tillsammans och småningom stelnade. Med eter erhöles sedan i moderluten en temligen betydlig fällning af nålformiga kristaller. Eter tillsattes, tills den deraf orsakade grumlingen fullständigt försvann vid tillsats af absolut alkohol. Moderluten behandlas längre ned under benämningen E. Vid försök att omkristallisera det med eter afskilda saltet genom lösning i vatten och tillsats af alkohol + eter erhöles liksom i försöket 2 blott en ringa mängd kristaller; största delen afskilde sig såsom kristallinisk beläggning på kärlets väggar. Trots långvariga försök lyckades jag ej genom omkristallisering erhålla någon enhetlig produkt. Ej ens genom omkristallisering

ur vatten kunde föreningen fås i ren form. Dess utom var den erhållna kvantiteten temligen liten.

På grund af framställningssättet var att förmoda, det den saltblandning, som jag hade under arbete, innehöll lysatininsilfversalt. Då jag vid undersökning af hornsubstansens klyfningsprodukter vid kokning med saltsyra funnit, att den med silfverniträt och alkohol erhållna klubbiga fällningen (motsvarande D här ofvan) utom lysin äfven innehöll lysatinin, beslöt jag pröfva, huruvida detta äfven här var fallet. Massan D löstes således i vatten, hvarvid en gråhvit silfverförening dels stannade olöst dels utföll, då lösningen fick stå en tid. Silfret fälldes ur lösningen med svafvelväte, filtratet koncentrerades till ringa volum, försattes med platinaklorid, alkohol och slutligen med eter, tills den af eter i ett uttaget prof framkallade grumlingen fullständigt löstes vid tillsats af absol. alkohol. Den segflytande fällningen (D_1) behandlades med absol. alkohol, som derefter förenades med moderluten från fällningen af platinaföreningar. Här aflägsnades nu alkohol och eter, platina fälldes med svafvelväte, och filtratet fälldes varmt med fosforwolframsyra. Vid afsvalning erhöles mikroskopiska, nålformiga kristaller men dess utom en kornig fällning. Fällningen sönderdelades på vanligt vis, filtratet från den kolsyrade baryten försattes med saltsyra, indunstades till torrhet och värmdes på vattenbad, så länge klorväte bortgick. Derpå löstes i vatten, och silfverniträt tillsattes, så länge fällning af klorsilfver bildades, samt dess utom en lika stor kvantitet som erfordrats för klorens utfällning. Nu hade tydligen tillförts lösningen salpetersyra för bildning af nitrat samt dess utom silfverniträt i sådana proportioner, att för den händelse lösningen innehöll lysatinin, föreningen $C_6H_{13}N_3O_2 \cdot HNO_3 + AgNO_3$ borde kunna bildas. Filtratet från klorsilfret koncentrerades och försattes med alkohol i små portioner. Härvid erhöles först en segflytande fällning (E), sedermera ej sammanflytande oljdroppar samt slutligen nålformiga kristaller, hvilka fullständigt afskilde sig först efter tillsats af eter. Vid försök att omkristallisera dessa erhöles emellertid liksom förut största delen såsom en kristallinisk beläggning å kärlets väggar, utan att jag lyckades erhålla en för analys tillräcklig mängd väl kristalliseradt salt. Hela saltmängden förenades med det förut erhållna orena silfversaltet (se sid. 24) och med den nyssnämnda syrupösa massan E. Silfret aflägsnades och, för att möjligen erhålla en renare produkt äfvensom för att aflägsna salpetersyan, fälldes lösningen ånyo med fosforwolframsyra, hvarvid jag liksom förut erhöles dels nålformiga kristaller, hvilka utgjorde hufvudmassan, dels ett otydligt

kristalliniskt pulver. Fällningen behandlades som förut, filtratet från kolsyrad baryt gjordes surt med saltsyra, och öfverskottet af denna aflägsnades på vattenbad. Indunstningsåterstoden löstes fullständigt genom uppvärmning med absol. alkohol. Då eter tillsattes till denna lösning, uppstod en grumling, som under en natt afsatte sig såsom ett öfverdrag på kolfvens botten. Den alkoholisk-eteriska lösningen behandlas längre ned under benämningen F. Den af eter utfällda sega massan löstes i vatten; lösningen reagerade surt. Denna försattes nu på nyss angifvet sätt med silfverniträt för bildning af lysatininsilfversalt. Filtratet från klorsilfret indunstades och försattes med en ringa mängd alkohol, hvarvid en sirup afskilde sig, hvilken emellertid under en natt kristalliserade i stora nålar. Tillsats af eter åstadkom nu en riklig kristallisation af fina nålar. Så erhöles ungefär 5 gr. orent silfversalt. Vid den följande reningen genom omkristallisering ur vatten under tillsats af alkohol och eter gick emellertid största delen deraf förlorad, emedan vid hvarje omkristallisering en god del af saltet fastade vid kärlets väggar. Blott de kristaller, som vid omskakning visade sig fria, togos med vid följande omkristallisering. Efter 5 omkristalliseringar erhöles jag utmärkt vackra, ända till $\frac{1}{2}$ cm. långa, prismatiska kristaller, som torkades öfver svafvelsyra och analyserades:

1. 0,2202 gr. gaf 0,0607 gr. Ag, 0,147 gr. $\text{CO}_2 = 0,04009$ gr. C och 0,08 gr. $\text{H}_2\text{O} = 0,00889$ gr. H_2O .

2. 0,1681 gr. gaf 26,1 cm^3 N vid 14° och 758 mm. Hg = 0,03064 gr. N.

De ur formeln $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HNO}_3 + \text{AgNO}_3$ beräknade äfvensom de vid analyserna funna procenttalen upptagas i följande tabell:

		Ber.	Fun.	
			1.	2.
Ag	108	27,55	27,57	—
C ₆	72	18,37	18,21	—
H ₁₃	14	3,57	4,04	—
N ₃	70	17,86	—	18,23
O ₈	128	32,65	—	—
		392	100.	

De portioner salt, som vid omkristalliseringarna afsatt sig på kärlets väggar löstes i vatten, och silfret fälldes med svafvelväte. Lösningen fälldes med fosforwolframsyra, då som förut kristallnålar och en ringa mängd otydliga korn afskildes. Af de ur fosforwolframsyrefällningen frigjorda kropparne gjordes nu

som förut klorider, som löstes i absol. alkohol och fälldes med eter. Ur den med eter utfällda delen erhöles nu på nyss angifvet sätt ett kristalliserande silfversalt, hvilket emellertid ej ens efter 5 omkristalliseringar visade sig fullständigt rent. Vid analysen erhöles nämligen 28,50 pCt silfver, 19,54 pCt kol, och 3,98 pCt väte, under det lysatininformeln fordrar 27,55 pCt silfver, 18,37 pCt kol och 3,57 pCt väte.

Såsom här af synes, har det varit förenadt med stora svårigheter att framställa lysatininsilfversaltet i analysren form. Sannolikt beror detta på närvaron af ännu ett silfversalt med högre silfver- och kolhalt, och jag har redan haft tillfälle att visa, att ett sådant salt eller saltblandning under vissa förhållanden kan erhållas ur digestionsvätskan (se sid. 21). Den substans som utgjort hufvudsakliga hindret för lysatininsaltets kristallisering synes emellertid hafva varit den i den alkoholisk-eteriska lösningen F innehållna, alldenstund efter aflägsnande af denna en långt rikligare kristallisation än förut erhöles.

Lösningen F befriades från eter och alkohol samt försattes med silfverniträt, hvarvid blott en ringa mängd klorsilfver bildades. Efter filtratets koncentrerings erhöles med alkohol och eter ingen kristalliserande produkt. Sedan eter och alkohol afdestillerats, fälldes silfret, hvarpå filtratet surgjordes och varmt fälldes med fosforwolframsyra. Härvid erhöles en jemförelsevis obetydlig fällning, som ej visade några tydliga kristaller och således ej kunde innehålla några nämnvärda mängder lysatinin. För vidare undersökning var fällningen allt för ringa.

Den silfverhaltiga moderluten F från det först omtalta rena lysatininsaltet (se sid. 26) fick indunsta till en tjock syrup; vid förnyad tillsats af alkohol och eter erhöles ej någon oljliknande fällning eller några kristaller. Silfret fälldes med svafvelväte; filtratet från svafvelsilfret visade liksom vid försöket 2 tydlig fluorescens. Med kopparsulfat och natronlut erhöles rent blå lösning, med pikrinsyra ingen grumling men med fosforwolframsyra en stark fällning. Den fluorescerande substansen aflägsnades liksom i försöket 2 genom tillsats af natronlut och utskakning med eter. Härpå gjordes surt och fälldes med fosforwolframsyra, hvarvid en otydligt kristallinisk fällning bildades. Denna sönderdelades på vanligt vis; filtratet från kolsyrad baryt gaf efter koncentrerings ingen kristalliserbar produkt med silfverniträt. Silfret aflägsnades och lösningen koktes med blyoxidhydrät. Efter blyets aflägsnande koncentrerades filtratet och gaf numera med silfverniträt en kristalliserande förening af samma utseende

som den förut å sid. 21 beskrifna. Den erhållna mängden var emellertid allt för obetydlig för vidare rening.

Den klibbiga bottensats D_{11} , som erhöles vid tillsats af alkohol till den platinahaltiga lösningen å sid. 25, gaf vid behandling med absolut alkohol några kristaller af samma utseende som lysinets platinasalt, under det större delen deraf förblef amorf. Emellertid visade sig nu samma svårighet som förut att få hela saltmängden i kristalliserad form. Ej ens sedan platinan aflägsnats och lösningen ännu en gång fälts med fosforwolframsyra utan uppvärmning, kunde jag få kristallisation till stånd ¹⁾.

Kristallisationen A (sid. 24), som motsvarade den bottensats, hvarur Külz framställt cystin och xanthin, löstes under uppvärmning i ammoniak utan återstod. Den ammoniakaliska lösningen gaf med silfverniträt ingen fällning och kunde således ej innehålla xanthin i någon nämnvärd mängd. Vid ammoniakens bortgång afsatte lösningen hvita korn, som under mikroskopet visade sig bestå af ett otydligt kristallpulver med större runda sammangyttringar — ej olika orent leucin — samt några få kristallnålar. Några sexsidiga taflor kunde ej upptäckas. Den afskilda kristallmassan var löslig i alkalier och syror, om också blott med svårighet i ättiksyra. För aflägsnande af färgämnen löstes i saltsyra och koktes med benkol. Filtratet neutraliserades med ammoniak, då en riklig fällning uppstod, som visade sig bestå af kristallnålar samt ytterst få sexsidiga, långsträckta taflor. Emellertid bildades vid kokning med natronlut intet svafvelalkali. Vid kokning med mycket utspädd ättiksyra löstes ett ämne som vid filtratets neutralisering utföll såsom en amorf flockig fällning. Det i ättiksyra olösta koktes med ammoniakalisk alkohol och utkristalliserade vid dennas afsvälning såsom utmärkt vackra nålar, hvilka visade tyrosinets alla egenskaper. Kristallisationen A bestod sålunda nästan uteslutande af tyrosin; hvaremot jag ej lyckats påvisa något cystin eller xanthin. Detta förtjenar framhållas, emedan Külz uttryckligen anmärker, att han ej funnit något tyrosin. Den cystinmängd han erhöil har sannolikt bildats af pankreassubstansen; han använde nemligen vid digestionen ungefär lika mängder fibrin och pankreas.

¹⁾ Platinan fälldes ånyo och lösningen fick stå ungefär 3 veckor. Under denna tid utvecklade sig några större kolonier mögelsvampar å vätskans yta, och då jag efter lösningens kokning med blyoxidhydrat ånyo sökte framställa platinasaltet, erhöil jag ej ens den sega fällning, som jag förut erhöilit. Sannolikt hade lysinet förstörts under inflytande af mögelsvamparne.

Att de kristaller, som efter digestionens afslutande afskilja sig, utgöras af tyrosin, framgår för öfrigt redan af Kühnes försök.

Fällningen med qvicksilfverklorid B (se sid. 24) uppslammades i vatten och sönderdelades genom inledning af vätesvafva under en längre tid. Filtratet från svafvelqvicksilfret gaf stark biurereaktion. Lösningen fälldes i värme med fosforwolframsyra; vid afsvälning afskilde sig små oljedroppar, hvilka emellertid snart stelnade. Dess utom kunde observeras en otydligt kristallinisk fällning. Fällningen sönderdelades på vanligt sätt med barythydrat, och öfverskottet af detta aflägsnades såsom kolsyradt salt. Filtratet reagerade alkaliskt, gaf rätt stark reaktion på baryt med svafvelsyra, gaf stark biurereaktion, gaf ej fällning med klornatrium och ättiksyra eller med ferrocyankalium och ättiksyra, gaf med garfsyra en betydlig fällning, med pikrinsyra en obetydlig grumling; med svafvelsyrad ammoniak erhöles i neutral vätska och efter mättning en knappt märkbar grumling. Med silfverniträt deremot erhöles en ymnig fällning, som till allra största delen löstes såväl i salpetersyra som ammoniak. Lösningen fälldes fullständigt med silfverniträt, hvartill åtgick ungefär 20 gr. silfversalt.

Filtratet från silfverniträtfällningen indunstades till ringa volum och pröfvades med alkohol och eter på förhandenvaron af lysatinin, utan att någon kristallisation visade sig. Blott en klibbig massa afskildes. Eter och alkohol afdestillerades och silfret fälldes med svafvelväte. Filtratet gaf stark biurereaktion och gaf med garfsyra efter neutralisation en flockig fällning samt med pikrinsyra en klibbig fällning.

Fällningen med silfverniträt C (se sid. 24) uppslammades i vatten och sönderdelades med svafvelväte. Filtratet från svafvelsilfret var starkt brunfärgadt. Det surgjordes med svafvelsyra och fälldes varmt med fosforwolframsyra, hvarvid en klibbig fällning bildades; vid afsvälning stelnade denna och dess utom afskilde sig mikroskopiska kristallnålar. Fällningen sönderdelades med barythydrat; efter barytöfverskottets aflägsnande reagerade lösningen svagt alkaliskt och gaf ej biurereaktion. Den försattes med silfverniträt, då som förut en ymnig fällning bildades. Derpå gjordes vätskan starkt ammoniakalisk, då största delen af fällningen löstes. Det olösta fränfiltrerades och löstes under uppvärmning med salpetersyra af sp. v. 1,1 och något urinämne. Vid lösningens afsvälning afskildes en flockig fällning utan utbildade kristaller. Då filtratet försattes med ammoniak, afskilde sig i ringa mängd en flockig fällning, som att döma af reaktionerna efter silfrets aflägsnande synes hafva varit

xanthinsilfver. Den ur den salpetersura lösningen afskilda fällningen sönderdelades med svafvelammonium, och filtratet från svafvelsilfret indunstades. Härvid afsatte sig en ljusgul substans, som under mikroskopet visade sig bestå af runda sammangyttringar, utan att någon kristallinisk struktur kunde iakttagas. Vattenlösningen visade en temligen stark fluorescens, som försvann, då lösningen gjordes ammoniakalisk. Med ammoniak erhöles hvarken genast eller sedermera någon fällning. Den fluorescerande substansen kunde emellertid extraheras ur den ammoniakaliska lösningen genom skakning med eter. Vid eterns afdunstning erhöles en högst obetydlig återstod, som dock med ett par droppar utspädd svafvelsyra och vatten gaf en stark fluorescerande lösning. Att döma häraf synes den fluorescerande substansen vara identisk med den förut ur moderluten från silfverfällningarna erhållna (se sid. 17).

Den ammoniakaliska lösning, hvarur den fluorescerande substansen extraherats, indunstades till torrhet, då en gulbrun massa återstod. Ett prof af denna gaf efter inverkan af zink och saltsyra med natronlut svag reaktion på hypoxanthin eller adenin. Återstoden löstes i alkohol under uppvärmning, och lösningen filtrerades; efter alkoholens aflägsnande löstes i vatten, tillsattes ammoniak och fälldes åter med silfverniträt. Som förut löstes fällningen i salpetersyra och utkristalliserade vid lösningens afsvälgning. Den sura moderluten visade en svag fluorescens. Vid omkristallisering ur salpetersyra bildades utmärkt vackra mikroskopiska nålar, grupperade samman till stjerner. Att döma af framställningssättet, kristallernas utseende samt nyssnämnda reaktion torde detta salt vara hypoxanthinsilfverniträt, möjligen förorenadt af adeninsalt. Den erhållna kvantiteten utgjorde blott 0,04 gr. och undersöktes ej vidare.

Digestionsförsök 6.

Vid de i det föregående beskrifna digestionsförsöken med fibrin hade jag använt ej så synnerligen små mängder pankreasextrakt. Så har jag vid hvarje försök eller till 3000 gr. fuktigt fibrin tagit extrakt af 100 gr. pankreaspulver. Nu vore det tänkbart, om också föga troligt, att extraktet innehölle de af mig funna nya digestionsprodukterna preformerade, och jag hade i så fall tillfört digestionsvätskan just de ämnen, hvarpå jag afsåg att pröfva densamma. Å andra sidan är det genom Kühnes och Chittendens undersökningar ¹⁾ ågagalagdt,

¹⁾ Zeitschr. f. Biol., Bd. 22, p. 442.

att vid själfdigestion af pankreasextrakt bildas pepton. Först digererades pankreaspulvret med 0,1 procentig salicylsyra samt derpå med 0,25 procentig soda-lösning, hvarpå båda lösningarna förenades, soda tillsattes till 0,25 pCt och vätskan ställdes till digestion i 3 dagar vid 40°. På förut angifvet sätt framställdes sedan peptonet ur digestionsvätskan. Modersubstansen till peptonet måste väl antagas vara de i körteln ingående, i alkohol och eter olösliga ägghvite-kropparne. Naturligtvis kunna dessa ej utan vidare antagas lemna samma digestionsprodukter som fibrin. Bildas vid digestionen af dessa ägghvitekroppar de af mig funna produkterna, så återstår likväl att afgöra, om de vid digestion af fibrin bildade mängderna af dessa kroppar kunna härleda sig uteslutande från pankreasextraktet eller delvis också från fibrinet. För att afgöra denna fråga företogs ett digestionsförsök med extrakt af 150 gr. pankreaspulver. Detta extraherades således med 900 cm³ 0,1 procentig salicylsyra under ett dygn vid vanlig temperatur. Härpå silades och filtrerades, neutraliserades, försattes med soda till 0,25 pCt och ett par gram thymol samt ställdes till digestion under en vecka vid 40°. Efter slutad digestion uppkoktes och filtrerades samt fälldes med qvicksilfverklorid under neutralisering med natronlut. I filtratet fälldes qvicksilfret med svafvelväte; filtratet från svafvelqvicksilfret försattes med svafvelsyra och fälldes varmt med fosforwolframsyra, hvartill åtgick ungefär 200 gr. kristalliserad syra. Fällningen behandlades vidare såsom ofvan i försöket 2 finnes angifvet. Jag erhöll på samma sätt som der vid tillsats af silfvernitratt till filtratet från kolsyrad baryt: 1) en flockig fällning, som ej blef vidare undersökt, 2) en klubbig bottensats vid tillsats af alkohol samt 3) några få nålformiga kristaller vid tillsats af mera alkohol och eter. Ur den klubbiga bottensatsen kunde jag emellertid efter aflägsnande af silfret ej på sätt vid försöket 2 angifves erhålla något kristalliserande platinasalt. Derför fälldes platina med svafvelväte, och filtratet koktes med blyoxidhydrat i öfverskott; ur filtratet fälldes det lösta blyet med svafvelväte. Till det nya filtratet sattes nu efter koncentring platinakloridsaltsyra och alkohol, då ett kristalliserande platinasalt afsatte sig och fullständigt utkristalliserade under tillsats af eter. Saltet omkristalliserades 4 gånger och erhöles såsom fina kristallnålar, som ytterst lätt upptogo fuktighet ur luften. Analys af öfver svafvelsyra torkadt salt:

0,2012 gr. gaf 0,0654 gr. Pt, 0,1164 gr. CO₂ = 0,03174 gr. C och 0,0636 gr. H₂O = 0,00706 gr. H.

Lysinplatinakloriden C₆H₁₄N₂O₂ · 2HCl · PtCl₄ + HOC₂H₅ fordrar i procent:

	Ber.	Fun.
Pt	32,36	32,50,
C	15,99	15,78,
H	3,66	3,51.

Den så erhållna mängden lysinplatinasalt utgjorde blott 0,7 gr.

Det kristalliserande silfversaltet utgjordes sannolikt af orent lysatininsalt. Emellertid var den erhållna mängden allt för obetydlig för rening och analys. Den alkohol-eteriska moderluten från silfversaltet gaf efter aflägsnande af eter och alkohol en tydlig blåviolett fluorescens, sannolikt beroende på samma fluore-scerande substans som jag erhållit vid digestion af fibrin.

Af detta sista försök med själfdigestion af pankreasextrakt framgår alltså, att äfven utan tillsats af fibrin bildas små mängder lysin och sannolikt äfven lysatinin. Emellertid äro de härvid erhållna mängderna synnerligen obetydliga i jämförelse med de vid närvaro af fibrin erhållna. Under det jag sålunda ur extraktet af 150 gr. pankreaspulver erhållit 0,7 gr. lysinplatinasalt och lysatininsalt i så ringa mängd, att den ej kunde undersökas, har jag ur digestions-produkterna af 3000 gr. fibrin med extrakt af 100 gr. pankreaspulver erhållit 28 gr. lysinplatinasalt och vid ett annat tillfälle 5 gr. orent lysatininsalt.

Undersökning af filtratet från fosforwolframsyrefällningen.

Filtratet från fosforwolframsyrefällningen af 6000 gr. fuktigt fibrin afsatte vid förvaring i skål en hård kristallskorpa på skålens botten. Häri kunde iakttagas vackra, stora oktaëdrar men derjemte mikroskopiska kristallnålar. De afskilda kristallerna voro till största delen lösliga i vatten men löstes mindre lätt i syror. Den lösligare delen visade sig vara fosforwolframsyra, som vid lösningens indunstning utfälts ur den af svafvelsyra starkt sura lösningen. Den mera svårlösliga delen af den afskilda kristallmassan sönderdelades efter lösning i vatten med barythydrat, och öfverskottet af baryt fälldes jemt med svafvelsyra. Ur filtratet afsatte sig vid koncentrerung kristaller af tyrosin och sedermera af leucin.

Den starkt sura moderluten från den ur filtratet från fosforwolframsyrefällningen afskilda kristallmassan skakades med eter, som upptog hufvudmassan af den fosforwolframsyra, som ännu fans kvar i lösningen, hvarpå denna

försattes med barythydrat till alkalisk reaktion och filtrerades från afskild fosforwolframsyra och svafvelsyra baryt. Ur filtratet fälldes baryten jemt med svafvelsyra. Då filtratet koncentrerades, afskilde sig tyrosin, som renades genom omkristallisering ur ammoniakalisk alkohol. En del deraf löstes i saltsyra och pröfvades med saccharimetern, då det befans vara venstervridande. Af Schulze's undersökningar öfver amidosyror ¹⁾ framgår, att de amidosyror, som bildas af ägghvita vid kokning med saltsyra, skilja sig från samma syror, uppkomna genom ägghvitans upphettning med barythydrat, dels hvad lösligheten beträffar, dels i förhållande till polariseradt ljus. Så äro de amidosyror, som alstras vid kokning med saltsyra, optiskt aktiva, under det de med barythydrat erhållna äro optiskt inaktiva. Tyrosin, erhållet med saltsyra var venstervridande. En saltsur lösning af sådant tyrosin gaf $\alpha_D = -15,6$ och en annan lösning med starkare saltsyra $\alpha_D = -8,48$; tyrosinets förmåga att vrida polarisationsplanet var således beroende på saltsyrans styrka. Vid min bestämning var α_D ungefär -10 .

Ur moderluten från tyrosinet erhöles leucin, som likaledes renades genom omkristallisering ur ammoniakalisk alkohol. Efter ett par omkristalliseringar erhöles leucinet såsom snedvinkliga mikroskopiska taflor. Leucin, erhållet af ägghvita genom kokning med saltsyra är enligt Schulze i vattenlösning venstervridande och i saltsur lösning högervridande ²⁾. I tvenne leucinlösningar med olika stark saltsyra fann Schulze $\alpha_D = +17,3$. I en saltsur lösning af leucin, framställt ur digestionsprodukterna, har jag erhållit värdet $\alpha_D = 17$.

Af dessa undersökningar framgår alltså, att de vid trypsindigestionen bildade amidosyrorna, tyrosin och leucin äro af samma slag som de af ägghvita vid kokning med saltsyra erhållna.

Moderluten från leucinet fälldes med alkohol, då en brunfärgad syrup afskildes; denna löstes i vatten och afskilde sig vid tillsats af alkohol ånyo såsom syrup. Efter lösning i vatten koktes med blyoxidhydrat i öfverskott, hvarpå vätskan filtrerades varm. Det olösta utkoktes ett par gånger med vatten och filtrerades kokande. Blyfällningen upptog större delen af färgämnena. Ur filtraten fälldes det lösta blyet med svafvelväte, hvarvid en ganska riklig fällning

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 9, p. 63.

²⁾ l. c. p. 100.

uppstod. Då filtratet koncentrerades, afsatte sig en färglös kristallmassa. Den i vatten mera svårslösliga delen af denna togs för sig. Den innehöll kristaller af olika utseende; tydligast iakttogos tetraëdrar. Vattenlösningen af kristallmassan reagerade surt. Sedan kristallerna ett par gånger renats genom att fälla vattenlösningen med mycket alkohol och derefter ett par gånger renats genom omkristallisering ur vatten, skreds till analys. De öfver svafvelsyra torkade kristallerna förlorade ej i vikt vid 90° .

1. 0,2597 gr. gaf 0,3987 gr. $\text{CO}_2 = 0,10873$ gr. C och 0,1556 gr. $\text{H}_2\text{O} = 0,01729$ gr. H.

2. 0,2646 gr. gaf $21,1 \text{ cm}^3$ N vid $15,5^{\circ}$ och 756 mm. Hg = 0,02449 gr. N.

Den analyserade substansen öfverensstämmer i afseende på svårslösligheten i vatten, kristallernas utseende, kloridens svårslöslighet i saltsyra och utseendet af dess kristaller med glutaminsyra. Emellertid synes syran att döma af analyserna ej hafva varit fullt ren. Formeln $(\text{HOCO})_2 \cdot \text{C}_3\text{H}_5 \cdot \text{NH}_2$ fordrar nemligen följande procenttal:

		Ber.		Fun.	
				1.	2.
C ₅	60	40,82	41,87	—	—
H ₉	9	6,12	6,66	—	—
N	14	9,52	—	—	9,25
O ₉	64	43,54	—	—	—
		147	100.		

Moderluten från glutaminsyran borde nu innehålla asparaginsyran. För att kunna isolera de små mängder, som möjligtvis förefunnos af denna syra, försökte jag att utfälla syran såsom silfversalt. Vid tillsats af silfvernitrattill vattenlösningen erhöles ingen fällning, men då lösningen försigtigt neutraliserades med ammoniak, uppstod en temligen voluminös sådan. Denna uppslammades i vatten och sönderdelades med svafvelväte. Då filtratet från svafvelsilfret koncentrerades, afsatte sig kristaller såsom mikroskopiska prismor. Vattenlösningen reagerade surt. Efter ett par omkristalliseringar analyserades. Emellertid gaf analysen värden, som ej öfverensstämde med asparaginsyrans formel. Att döma af analysen synes den analyserade substansen hafva utgjorts af en blandning af glutaminsyra och asparaginsyra.

	Beräknad procent för asparaginsyra	Funnen procent	Beräknad procent för glutaminsyra
	$(\text{HOCO})_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_3 \cdot \text{NH}_2$		$(\text{HOCO})_2 \cdot \text{C}_3\text{H}_5 \cdot \text{NH}_2$
C	36,08	38,56	40,82
H	5,26	5,95	6,12

Den erhållna kvantiteten var allt för ringa för vidare rening. Vid tillgång till större kvantiteter torde väl i detta fall Ritthausens metod kunna föra till målet ¹⁾. R. försatte de båda syrnas vattenlösning med alkohol till 50—60 pCt, då asparaginsyran utkristalliserade och glutaminsyran stannade i lösning.

Moderluten från den analyserade syreblandningen innehöll en ej kristalliserande syra eller syreblandning, som var mycket lätt löslig i alkohol, och som ur sin vattenlösning kunde fällas med silfverniträt och ammoniak. I själfva verket synes denna syra hafva utgjort hufvudportionen af de med silfverniträt och ammoniak utfällda syrorna. Sannolikt föreligger här samma substans som jag förut påträffat i den mera lösliga delen af fosforwolframsyrefällningen (se sid. 23).

Öfversigt af resultaten.

Af ofvanstående undersökningar framgår, att vid den artificiella digestionen af fibrin med trypsin bildas utom förut kända produkter äfven tvenne med fosforwolframsyra fällbara, basiska kroppar, nemligen lysin och lysatinin. Emellertid möter påvisandet af dessa kroppar högst väsentliga svårigheter, beroende på den stora mängd okända produkter, som samtidigt bildas och likaledes fällas af fosforwolframsyra och hvilka till största delen kunna sammanfattas under benämningen pepton. Dessa ämnen uppträda sannolikt vid olika försök med något olika egenskaper och möjligen jemväl i olika kvantiteter, och torde detta utgöra förklaringsgrunden, hvarför jag vid olika försök måst anlita olika metoder för påvisande af lysinet. Lysatininet har jag blott vid ett digestionsförsök lyckats erhålla i fullkomligt ren form, och jag har således ej haft tillfälle att för andra fall pröfva den dervid använda metoden.

I ett fall (försöket 1) lyckades jag erhålla lysinets platinasalt i kristalliserad form enligt Drechsels ursprungliga metod för påvisande af detta salt, dock först sedan jag med bariumvismutjodid aflägsnat peptonartade kroppar. I ett annat försök (nr 2) kunde jag erhålla samma salt enligt Siegfrieds metod

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem.; Bd. 107 (1869), p. 222.

för dess påvisande, efter det största delen af peptonerna aflägsnats med qvicksilfverklorid i neutral lösning. I tvenne följande försök (3 och 4) förde emellertid detta förfaringssätt ej till målet. Först sedan jag ännu en gång fällt lysinet med fosforwolframsyra, lyckades jag få platinasaltet i kristalliserad form. Sannolikt får detta anses bero derpå, att vid den förnyade fällningen med fosforwolframsyra den eller de substanser, som hindrat kristallisationen, gått i lösning. Hvad peptonet beträffar fälles det, såsom ofvan angifvits, af fosforwolframsyra men ingalunda fullständigt, och då lysinets och lysatininets föreningar med fosforwolframsyra äro mycket svårslösliga i surt vatten, torde man genom upprepade fällningar kunna befria dem från en stor del föroreningar. I ett annat försök (nr 6) har jag erhållit en kristalliserande produkt, först sedan jag kokt lysinets vattenlösning med blyoxidhydrat. Denna verkan af blyoxidhydratet får väl antagas bero på, att detsamma aflägsnat en del ägghviteartade kroppar ur lösningen. I detta fall försökte jag ej förnyad fällning med fosforwolframsyra.

Öfverhufvud synes det behövas blott en ringa mängd föroreningar för att hindra lysinplatinasaltets kristallisering, och det har inträffat, att saltet sedan det en gång kristalliserat väl, efter lösning blott med svårighet åter kunnat bringas till kristallisation. Att saltet så lätt afskiljer sig såsom en olja, torde äfven bero på dess benägenhet att upptaga vatten, och vid dess kristallisering torde mycket bero på, att den rätta proportionen mellan vatten och alkohol iakttages. Att inleda kristallisationen genom att tillsätta några väl utbildade kristaller af samma salt, har aldrig lyckats mig.

Då det vore tänkbart, att de af mig isolerade produkterna skulle hinna bildas genom svafvelsyrans inverkan på digestionsprodukterna (t. ex. på pepton) under den korta tid, som åtgår för vätskans upphettning till kokning före fällningen med fosforwolframsyra, har jag vid försöket 5 fällt med fosforwolframsyra vid vanlig temperatur och äfven i öfrigt undvikit upphettning med syra, ända tills jag erhållit kristaller af såväl lysinplatinasalt som af lysatininsilfersalt. Försöket bevisar således, att lysinet och lysatininet ej varit produkter af syrans inverkan. Svårigheten att i detta fall erhålla hela lysinmängden i kristalliserad form torde bero derpå, att lysinet vid fällning utan uppvärmning afskiljer sig såsom en otydligt kristallinisk eller till och med amorf fällning, under det att vid fällning i värme erhålles vackra prismatiska kristaller. Genom fällning i värme torde således föreningen vara lättare att rena från pepton än genom fällning i köld.

Lysatininets silfverdubbelsalt har jag väl lyckats erhålla i kristaller enligt Siegfrieds förfaringssätt för dess framställande, men dessa kristaller hafva visat sig så orena, att jag ej på grund af analys af desamma kunnat anse lysatininets bildning bevisad (försöket 2). Det synes kristallisera tillsammans med ett annat silfversalt, från hvilket det ej genom omkristallisering kan befrias. Först sedan jag renat lysatininet genom upprepad fällning med fosforwolframsyra och genom att fälla dess klorid ur absolut alkohol med eter, lyckades jag om också äfven nu med svårighet erhålla silfversaltet i analysren form.

I ett annat fall (försöket 4), då jag sökte isolera lysatininet genom att begagna mig af kloridens löslighet i alkohol och den fria basens fällbarhet med alkohol, försökte jag ur kloriden frigöra lysatininet genom kokning med blyoxidhydrat. Vid denna operation förstördes sannolikt den ringa mängd lysatinin som verkligen förefunnits. Med alkohol erhöles nemligen ingen fällning af lysatinin, och med salpetersyra och silfversalt erhöles ingen kristalliserande produkt. Tillsattes emellertid till den lösning som borde innehålla det fria lysatininet blott silfverniträt, erhöles ett kristalliserande salt, som ej var lysatininsalt men hvars sammansättning måste lemnas tills vidare oafgjord. Då jag genom kokning af rent lysatinin med blyoxidhydrat erhållit produkter af liknande sammansättning, vore det möjligt, att den qvävförening, hvars silfversalt jag sålunda erhållit, är en sönderdelningsprodukt af lysatinin. Å andra sidan vore det ock möjligt, att föreningen verkligen bildas vid digestionen, och att det är denna som i så hög grad försvårat lysatininets rening.

Vid uttvättningen af fosforwolframsyrefällningen hafva fosforwolframsyreföreningar af amidosyror — åtminstone af tyrosin och leucin — medföljt tvättvattnet såsom oljdroppar. Sådana temligen svårlösliga föreningar hafva äfven afskilt sig ur filtratet från fosforwolframsyrefällningen vid förvaring. Detta visar, att vissa amidosyror äfvenledes ega förmågan att med fosforwolframsyra bilda föreningar, hvilka visserligen äro lättare lösliga i vatten än lysinets och lysatininets samt äfven peptonets men som likväl, åtminstone då utfällningen med fosforwolframsyra verkställes i temligen koncentrerad lösning, kunna delvis ingå i fällningen. Också har jag aldrig lyckats tvätta fosforwolframsyrefällningen fullständigt fri från amidosyror. Åtminstone har jag alltid, efter fällningens sönderdelning med barythydrat och barytöfverskottets aflägsnande såsom kolsyradt salt, kunnat med svafvelsyra påvisa en ringa mängd baryt i lösningen, hvilken mängd sålunda ej varit fällbar med kolsyra.

För att bland digestionsprodukterna med trypsin påvisa lysin och lysatinin torde att döma af mina hittills gjorda försök följande förfaringssätt vara lämpligast.

Den klara digestionsvätskan försättes med svafvelsyra till 5—10 pCt, upphettas till kokning och fälles med en likaledes kokhet lösning af fosforwolframsyra. I ett mindre prof kan man på förhand utröna, huru mycket fosforwolframsyra som erfordras för fullständig utfällning. Fällningen tvättas med en lösning, innehållande 5 pCt svafvelsyra och 5—10 pCt fosforwolframsyra, tills tvättvattnet går klart igenom. Derpå sönderdelas den under uppvärmning med barythdrat och med undvikande af betydligare öfverskott. Ur filtratet från fosforwolframsyrad baryt aflägsnas barytöfverskottet såsom kolsyradt salt. Derpå fälles med qvicksilfverklorid under neutralisering med natronlut. Ur filtratet fälles qvicksilfret med svafvelväte; filtratet från svafvelqvicksilfret fälles efter tillsats af svafvelsyra ånyo med fosforwolframsyra i värme, och fällningen behandlas som förut. Filtratet från kolsyrad baryt försättes efter indunstning till ringa volum med silfverniträt, då en temligen riklig fällning uppstår. Filtratet från denna försättes med alkohol i små portioner, då först en oljliknande fällning (A) bildas och sedermera i somliga fall nålformiga kristaller (B). Dessa afskiljas fullständigt under tillsats af eter. Kristallerna B utgöras af orent lysatinin, under det den sega massan A innehåller lysin samt hufvudmassan af lysatininet. A tages för sig, löstes i vatten och filtrerades från en olöst rest; silfret aflägsnas med svafvelväte; filtratet koncentreras och försättes med platinaklorid, alkohol och eter i små portioner. Eter tillsättes ej längre än tills den deraf i ett uttaget prof orsakade grumlingen fullständigt löses vid tillsats af absolut alkohol. Härpå afhålles vätskan (A) från den bildade bruna botten-satsen, och denna behandlas upprepade gånger med absolut alkohol, så länge denna färgas. Den i alkohol olösliga återstoden innehåller nu lysinplatinaklorid i oren form, och möjligen kan man lyckas efter lösning i litet vatten genom tillsats af något platinaklorid samt alkohol få saltet att kristallisera. I de flesta fall torde detta emellertid ej lyckas. Man har då att för lysinets rening efter platinans aflägsnande ånyo fälla med fosforwolframsyra och möjligen dess utom koka det frigjorda lysinet med blyoxidhydrat samt derpå med platinaklorid och alkohol försöka erhålla kristaller. Lämpligen tillsättes alkohol blott tills en kvarstående grumling bildas, då i lyckligt fall kristaller efter några timmar visa sig. En ringa fällning af kalium eller af ammoniumplatinaklorid frånfiltreras.

Har kristallisationen en gång börjat, bör den underhållas genom tillsats af eter i små portioner, dock ej längre än tills absolut alkohol löser den af eter framkallade grumlingen. Vid hvarje omkristallisering tillsättes något platinaklorid. Efter 4—5 omkristalliseringar är saltet rent.

Den alkohol-eteriska moderluten A från lysinplatinakloriden tages tillsammans med det med alkohol derur extraherade, eter och alkohol aflägsnas, platina fälles, och lösningen förenas med lösningen af kristallerna B, sedan silfret blifvit derur fäldt. Härpå tillsättes svafvelsyra och fälles varmt med fosforwolframsyra. Fällningen behandlas som vanligt, och det svagt alkaliska filtratet från kolsyrad baryt försättes med saltsyra, indunstas till torrhet, löses i vatten och indunstas ånyo. Härpå löses i absol. alkohol under uppvärmning, och den alkoholiska lösningen — om nödigt filtrerad — försättes med eter, så länge grumling bildas. Fällningen afsätter sig å kärlets väggar, så att vätskan efter 12 timmar kan afhållas. Det afsatta löses i vatten, försättes med silfverniträt, så länge fällning bildas, samt ytterligare med så mycket silfverniträt som erfordrats för saltsyrans fullständiga utfällande. Filtratet från klorsilfret ger efter koncentrering vid tillsats af alkohol och eter kristaller af lysatininets dubbelsalt. Efter 6—7 omkristalliseringar torde saltet vara analysrent.

Utom lysin och lysatinin har jag i digestionsvätskan funnit en fluorescerande substans, som dels förefunnits i den silfverhaltiga moderluten från lysinets och lysatininets silfverföreningar, dels kunnat påvisas i den vid tillsats af silfverniträt uppkomna amorfa fällningen. Emellertid kan denna kropp ej med bestämdhet uppgifvas såsom produkt af fibrinets digestion, alldenstund den äfvenledes visat sig vid sjelfdigestien af pankreasextrakt, och inga kvantitativa bestämmningar kunnat göras.

Samma anmärkning gäller om de små mängder hypoxanthin, som jag erhållit ur digestionsvätskan, och möjligen äfven om glutaminsyran, som jag erhållit i ej fullt ren form. Såsom förut är nämdt, har denna syra förut blifvit iakttagen bland digestionsprodukterna af vegetabilisk ägghvita.

Redan förut har jag påpekat, huru de för framställning af pepton använda metoderna ej lemna någon säkerhet för att den erhålla produkten varit enhetlig. Då det nu lyckats mig att ur digestionsprodukterna framställa nya kristalliserande kroppar, kan man fråga, huruvida ej dessa kunna hafva ingått i det efter förut angifna metoder framställda anti-peptonet. De hufvudsakliga operationer, som användts för peptonets rening, äro aflägsnade af albuminater med

svafvelsyrad ammoniak samt fällning med fosforwolframsyra och med alkohol. Af svafvelsyrad ammoniak fälles hvarken lysin eller lysatinin, men deremot fällas båda af fosforwolframsyra, och äro de dervid bildade föreningarna svår-lösligare än peptonets förening med fosforwolframsyra. Af alkohol fälles åtminstone det fria lysatininet, under det lysinet synes vara lösligt. Om det således här af är sannolikt, att åtminstone lysatininet ingått i peptonet, så föreligger dess utom möjligheten, att en del andra med fosforwolframsyra fällbara produkter, hvilka såsom jag ofvan anført ej gifva biuretreaktion, äfvenledes medföljt peptonet. Härtill kommer, att Kühne för aflägsnande af svafvelsyrad ammoniak ur peptonlösningen använt långvarig kokning med barythydrat, hvarigenom lysatininet kunnat sönderdelas i urinämne och andra produkter, och sannolikt äfven andra ämnen undergått förändringar. För att befria peptonet från lysatinin och möjligen förhandenvarande lysin är det, såsom mina undersökningar visa, tillräckligt att fälla med qvicksilfverklorid i neutral lösning, hvarvid likväl en del af peptonet går i lösning.

Lysinets och lysatininets egenskaper.

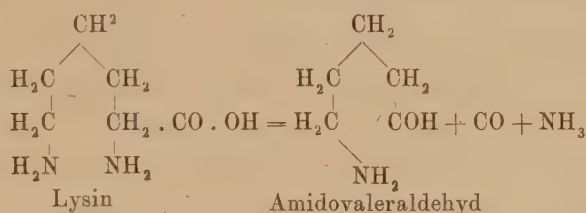
Om bildningen af lysin och lysatinin vid fibrinets digestion med trypsin är med säkerhet ådagalagd, så hafva de ringa mängder jag deraf erhållit ej medgifvit ett närmre studium af dessa kroppars kemiska egenskaper, ett studium, hvarpå jag ej kunnat inlåta mig äfven af det skäl, att dessa kroppars upptäckare är sysselsatt dermed. Af hvad som hittills blifvit publiceradt angående lysinet har en del redan i det föregående blifvit anfördt. Enligt ett nyligen gjordt meddelande af Drechsel och Krüger ¹⁾ ger det ett sulfat, som kristalliseras i stråliga massor, samt ett karbonat af sammansättningen $2C_6H_{14}N_2O_2 + CO_2$, analogt med karbaminsyrad ammoniak. Vid upphettning af kloriden till 261° erhöles salmiak, saltsyra, vatten och koloxid ²⁾.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 25, p. 2454.

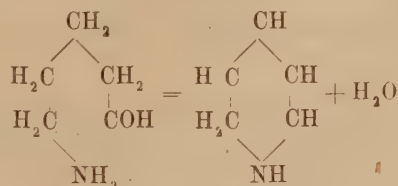
²⁾ Då Drechsel sedermera funnit, att alanin vid torr destillation ger aldehyd, koloxid och ammoniak (Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 25, p. 3502), framställer han den förmodan, att lysin, som han antager vara α - ϵ -diamidonormalkapronsyra, vid upphettning sönderdelas på analogt sätt under bildning af amidovaleraldehyd, kolsyra och ammoniak enligt formeln:

Om lysatininet har Drechsel meddelat ¹⁾, att detsamma vid kokning med barythydrat ger upphof till urinämne. På grund här af äfvensom på grund af lysatininets kvantitativa sammansättning anser Drechsel, att lysatininet är homologt sammansatt med kreatin ($C_4H_9N_3O_2 + H_2O$) eller kreatinin ($C_4H_7N_3O$) allt efter som formeln antages vara $C_6H_{13}N_3O_2$ eller $C_6H_{11}N_3O + H_2O$. Att döma af det för föreningen föreslagna namnet, tyckes Drechsel snarare anse den analog med kreatinin. Orsaken härtill torde vara den, att föreningen är fullt beständig i sur lösning på samma sätt som kreatinin, under det kreatinet vid kokning med syror öfverföres i kreatinin.

Då jag på grund af digestionsförsöket 3 (se ofvan) misstänkte, att lysatininet vid kokning med blyoxidhydrat undergick sådana förändringar, att det ej vidare gaf något silfversalt af ofvan angifna sammansättning, ansåg jag mig berättigad att för afgörande af denna fråga underkasta rent lysatinin kokning med blyoxidhydrat i öfverskott för att undersöka produkterna. 10 gr. lysatinin-silfversalt löstes sålunda i vatten, silfret fälldes med saltsyra, och filtratet från klorsilfret värmdes med blyoxidhydrat på vattenbad under ungefär 7 timmar. Alldenstund jag vid motsvarande behandling af digestionsprodukten erhållit temligen stark lukt af ammoniak, leddes de möjligen bortgående gaserna till absorption i saltsyra. Efter slutad kokning visade sig emellertid denna ej inne-



Å andra sidan bildas enligt Wolfensteins försök (Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 23, p. 3096) vid upphettning af amidovaleraldehyd under förlust af vatten tetrahydropyridin enligt formeln:



Skulle Drechsels antagande med afseende på lysinets konstitution och amidovaleraldehydens bildning vid dess upphettning bekräfta sig, vore alltså en väg funnen, på hvilken man kunde af ägghvita framställa hydropyridinbaser.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 23, p. 3096.

hålla någon ammoniak. Filtratet från blyoxidhydratet befriades från löst bly och indunstades till ringa volum. Reaktionen var alkalisk, och med silfverniträt erhöles en ringa brunsvart fällning. Efter koncentrerung filtrerades, och då filtratet fick af svalna afsatte sig ett i nålar kristalliserande salt i riklig mängd. Detta omkristalliserades ett par gånger och visade sig derefter innehålla 41,38 pCt silfver. Efter ytterligare 3 omkristalliseringar innehöll det 37,66 pCt silfver, 19,1 pCt kol och 3,77 pCt väte, hvilka värden ej öfverensstämma med någon antaglig formel. Sedan saltet omkristalliserats ur vatten genom tillsats af alkohol samt ännu ett par gånger ur vatten gaf det följande procenttal: Ag = 31,22, C = 20,78, H = 4,20, N = 17,27 ¹⁾.

Försöket visar alltså, att produkter af mycket varierande sammansättning erhållits, på grund hvaraf det synes sannolikt, att den produkt, som erhållits vid undersökning af digestionsvätskan bildats vid kokningen med blyoxidhydrat.

Oåfsedt ammoniaken, hvars bildning vid trypsindigestionen förut blifvit ådagalagd, äro lysin och lysatinin de första basiska produkter, som erhållits vid arteficiel trypsindigestion. Härmed kan dock ej anses bevisadt, att dessa ämnen alstras äfven vid den naturliga digestionen, äfven om detta kan antagas såsom högst sannolikt, alldenstund Kühne, såsom förut blifvit framhållet, vid digestion i tarmen erhållit samma produkter som vid arteficiel digestion. Lysin och lysatinin skulle under sådana förhållanden vara att räkna till de af GAUTIER med namnet *leukomainer* betecknade basiska produkterna af ämnesomsättningen inom organismen ²⁾. Här möter oss då frågan, om dessa ämnen hafva giftiga egenskaper. Vid undersökningar, som jag anställt i syfte att något belysa denna fråga, har jag vid subkutan injektion på kaniner ej kunnat observera några giftverkningar. I en lösning af 10 gr. alkoholfritt lysinplatinasalt fälldes platinan med svafvelväte, saltsyran aflägsnades med silfveroxid, och det lösta silfret fälldes med svafvelväte; efter lösningens koncentrerung befans den ej innehålla något bundet svafvelväte men deremot kolsyra. Af lösningen, som borde

¹⁾ Sannolikt af en tillfällighet öfverensstämma dessa värden fränsedt kväfvhalten med de procenttal, som beräknas ur formeln $C_6H_{15}N_3O_3 + AgNO_3$, nemligen Ag = 31,12, C = 20,75, H = 4,20, N = 16,14. Skulle emellertid saltets sammansättning vara denna, vore dermed en kropp funnen, som hvad den kvantitativa sammansättningen beträffar står i samma förhållande till lysatinin som kreatin till kreatinin. Föreningen $C_6H_{15}N_3O_3$ vore då lysatin, som uppkommit af lysatinin genom kokning med blyoxidhydrat på samma sätt som kreatin uppkommer af kreatinin vid inverkan af kalkmjölk eller ammoniak i köld.

²⁾ Maly's Jahresber., Bd. 16, p. 523.

innehålla 2,5 gr. lysin, injicerades först $\frac{1}{5}$ och följande dag den öfriga delen utan att några sjukliga symptom visade sig.

Af lysatininsilfversaltet sönderdelades 5 gr. med saltsyra, filtratet från klor-silfret fälldes med fosforwolframsyra, och lysatininet frigjordes ur fällningen på vanligt vis. Lysatininlösningen, som nu borde innehålla ungefär 2 gr. lysatinin, koncentrerades och injicerades på en gång; inga sjukliga symptom uppträdde.

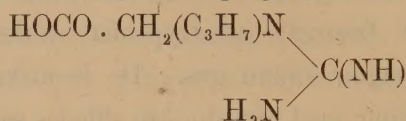
Af Hüfners undersökningar öfver syreförbrukning och kolsyreproduktion vid pankreasdigestionen ¹⁾ framgår, att trypsinets verksamhet ej är betingad af närvaron af syre eller någon annan gas. De kemiska processer, som försiggå vid ägghvitans sönderdelning med trypsin, äro således sannolikt att hänföra till de hydrolytiska klyfningsprocesserna. Genom dylika förlopp bildas alltså inom organismen amidosyror och sannolikt äfven basiska kroppar; dessa sönderdelas sedermera vidare under bildning af kolsyra, vatten och urinämne såsom hufvudsakliga slutprodukter. Vid dessa senare ämnens bildning måste emellertid äfven kemiska förlopp af helt annan art ega rum, hvilka i stort sedt kunna betecknas såsom oxidation. Då nu på grund af mina undersökningar kan antagas såsom högst sannolikt, att lysatinin bildas vid den naturliga digestionen, så är derigenom en ny väg gifven för urinämnets bildning inom organismen. Och likasom urinämnets uppkomst af lysatinin med barythydrat är en hydrolytisk process, föreligger nu möjligheten för att en del af urinämnet inom organismen bildas ur ägghvita endast genom hydrolytisk klyfning och således utan oxidation. Detta är så mycket mera anmärkningsvärdt som de hittills gjorda försöken att genom oxidation af ägghvita erhålla urinämne öfverhufvud ej kunna sägas hafva ledt till något bestämdt positivt resultat. BÉCHAMPS uppgift att urinämne bildas vid oxidation med permanganat ²⁾ har nemligen af senare forskare (Staedeler, Loew, Tappeiner) ej bekräftats. Naturligtvis kunna vi ej antaga, att allt det af organismen afsöndrade urinämnet bildats af lysatinin, helst som lysatininet synes bildas i blott ringa mängd, och dessutom möjlighet finnes för bildning af urinämne äfven på annan väg t. ex. af amidosyror, ammoniaksalter (karbaminsyrad ammoniak), xanthinkroppar, sarkosin o. s. v.

Nyligen har Griffiths i urinen vid ett fall af epidemisk parotitis funnit en alkaloidartad kropp af samma kvantitativa sammansättning som lysatininet.

¹⁾ Journ. f. prakt. chem., Bd. 11 (1875), p. 43.

²⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 100, p. 247.

Urinen gjordes alkalisk med soda och extraherades med eter. Vid eternas afdunstning erhöles en kropp, som efter rening kristalliserade i prismor, var löslig i vatten och kloroform, reagerade neutralt och genom väl stämmande analyser visades hafva sammansättningen $C_6H_{13}N_3O_2$. Den gaf fällning med fosforwolframsyra och med platinaklorid ett kristalliserande dubbelsalt. Vid kokning med qvicksilfverkoxid erhöles kreatin och sedermera metylguanidin och oxalsyra. Griffiths anser därför, att föreningen är propylguanidinättiksyra,



Den är giftig och innehålles ej i normal urin.

För att utröna, om lysatininet möjligtvis kunde vara identiskt med Griffiths förening löstes 3 gr. af lysatininets silfversalt i vatten, silfret fälldes med saltsyra, filtratet gjordes alkaliskt och skakades med eter. Vid afdunstning lemnade emellertid etern ingen återstod. Då lysatininet dess utom ej kunnat erhållas i kristaller, reagerar alkaliskt och ej ger något kristalliserande platina-salt, kan häraf anses bevisadt, att det ej är identiskt med ofvannämnda förening.

De genom mina undersökningar vunna resultaten kunna i korthet sammanfattas sålunda:

1) Vid digestion af okokt fibrin med trypsin bildas utom förut kända produkter, nemligen "pepton", tyrosin, leucin, asparaginsyra(?) och ammoniak(?) äfven tvenne basiska kroppar lysin och lysatinin samt dertill sannolikt äfven glutaminsyra.

2) Dess utom har erhållits en fluorescerande substans, som ger en kristalliserande klorid. Då emellertid en dylik substans uppstår äfven vid sjelfdigestion af pankreasextrakt, kan den ej med säkerhet uppgifvas såsom produkt af digestionen.

3) Huruvida xanthinkroppar bildas vid digestionen, måste lemnas ofgjordt, då de ringa mängder som erhållits möjligen kunna leda sitt ursprung från pankreasextraktet.

4) Cystin synes ej bildas vid digestionen, hvadan den af Külz erhållna cystinmängden sannolikt uppstått af eller innehållits i den tillsatta körtelsubstansen.

5) De vid digestionen bildade amidosyrorna tyrosin och leucin äro optiskt aktiva och identiska med de vid äggghvitans sönderdelning med saltsyra och tennklorur erhållna amidosyrorna.
